



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

JÉSSICA MOURA DE OLIVEIRA

Obtenção de Microcápsulas do extrato de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.), pelo processo de gelificação iônica: caracterização dos compostos bioativos e capacidade antioxidante

SÃO CRISTÓVÃO/SE
2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

JÉSSICA MOURA DE OLIVEIRA

Obtenção de microcápsulas do extrato de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.), pelo processo de gelificação iônica: caracterização dos compostos bioativos e da capacidade antioxidante

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Alessandra Almeida Castro Pagani.

Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Elma Regina Silva de Andrade Wartha.

SÃO CRISTÓVÃO/ SE
2020

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

Oliveira, Jéssica Moura de
O48o Obtenção de microcápsulas do extrato de erva cidreira
(*Melissa officinalis* L.), pelo processo de gelificação iônica:
caracterização dos compostos bioativos e da capacidade
antioxidante / Jéssica Moura de Oliveira ; orientadora
Alessandra Almeida Castro Pagani. – São Cristóvão, 2020.
124 f.

Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de
Alimentos) – Universidade Federal de Sergipe, 2020.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Erva-cidreira. 3. Gelação.
4. Cápsulas (Farmácia). 5. Compostos bioativos. I. Pagani,
Alessandra Almeida Castro, orient. II. Título.

CDU 664:635.49



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

JÉSSICA MOURA DE OLIVEIRA

PARECER FINAL DO JULGAMENTO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Obtenção de microcápsulas do extrato de erva cidreira (*Melissa officinalis*
L.), pelo processo de gelificação iônica: caracterização dos compostos
bioativos e capacidade antioxidante**

Autor: Jéssica Moura de Oliveira

Orientador(a): Prof^ª. Dr^ª. Alessandra Almeida Castro Pagani.

Co-orientador(a): Prof^ª. Dr^ª. Elma Regina Silva de Andrade Wartha.

Banca Examinadora:

A handwritten signature in blue ink, reading 'Alessandra Almeida Castro Pagani', written over a horizontal line.

Prof^ª. Dr^ª. ALESSANDRA ALMEIDA CASTRO PAGANI.

Orientador/ NUCTA – UFS

A handwritten signature in blue ink, reading 'Maria Terezinha Santos Leite Neta', written over a horizontal line.

Prof^ª. Dr^ª. MARIA TEREZINHA SANTOS LEITE NETA

Examinador Interno/ NUCTA – UFS

A handwritten signature in black ink, reading 'Hugo Jose Xavier Santos', written over a horizontal line.

Prof. Dr. HUGO JOSE XAVIER SANTOS

Prof. Dr. Examinador Externo/Coordenação Nutrição – UNIT

Dedico este trabalho e toda minha alegria à DEUS!
**“Santo anjo do Senhor, meu zeloso guardador,
sempre me rege, me guarde, me governe, me ilumine, Amém!”**

AGRADECIMENTOS

Tomada de uma alegria infinda, vejo meu sonho tornar-se realidade. Muito além da conquista de um título, o mestrado foi um enorme aprendizado para a vida, quanto amadurecimento obtive com essa difícil jornada.

“Vocês não sabem o quanto eu caminhei para chegar até aqui”

Em toda minha caminhada, contei com pessoas que acreditaram no meu potencial, e foram de extrema importância para que eu chegasse até aqui, pois sempre é preciso uma palavra de incentivo, um gesto de compreensão e uma atitude de compaixão.

Obrigada DEUS MARAVILHOSO, pela minha fé que acalenta a alma, por sentir a Tua magnífica presença, Tuas bênçãos e o Teu amor em meu coração.

Obrigada minha mãe linda, cresci aprendendo com suas lições de vida, tornei-me adulta tentando corresponder aos seus anseios, aprendi a essência do viver seguindo seus exemplos. Minha base! Sem as suas mãos para me segurar, não conseguiria dar o primeiro passo. Obrigada pela confiança e incentivo, obrigada por ficar sempre ao meu lado acreditando mais em mim do que eu mesma. A senhora dedico a minha vitória e a minha felicidade, Te amo mãe!

Obrigada Pai, pelo dom da vida e por todo amor, carinho e incentivo. Te amo!

Aos meus irmãos, obrigada por todo carinho e amor. Amo muito vocês!

Às minhas queridas tias, tenho orgulho de ter exemplos de mulheres guerreiras como vocês, obrigada por todo o incentivo, amor e carinho. Amo vocês!

A toda a família AMADEUS meus sinceros agradecimentos por todo o apoio, confiança, incentivo e aprendizado. Serei eternamente grata a toda essa maravilhosa equipe, por sempre incentivar os estudos, me proporcionando a conciliação de trabalho e estudos. Agradeço em especial à João Carlos (meu segundo pai) Mírian, Renir, José Augusto, Duanny, Simone, Thaís, Val, Clerinho, Fran, Flávia e Parada.

Descobrimo-nos vivendo a mesma escolha, mesma jornada, mesmos sonhos e medos e, assim, conquistamos nossos primeiros objetivos. Obrigada, queridos amigos e amigas do mestrado, por esses anos compartilhados. Hoje fica a certeza de que nossos esforços valeram a pena, pois sempre estivemos unidos por um único e verdadeiro objetivo. Sempre tive o carinho, apoio e ajuda todos, um segurando a mão do outro, todos remando juntos para ninguém pular fora do barco, pois sabemos o quão difícil é a trajetória.

Agradecemos àqueles que compartilharam conosco seus conhecimentos, e que, além de mestres, foram amigos, companheiros, incentivando nosso crescimento profissional, e que estiveram lado a lado, com sua dedicação e paciência, lições de saber, repartindo suas experiências de vida, e ajudando a traçar nossos rumos. Que Deus ilumine a todos nesta árdua missão que é educar. A cada um de vocês toda a minha gratidão e admiração. Em especial a minha querida orientadora Alessandra Pagani, por todo conhecimento, paciência, compreensão e carinho, às professoras Elma Wartha e Terezinha, aos professores da Universidade Tiradentes, por todo aprendizado e incentivo aos estudos e por serem meus exemplos de profissionais, em especial a Hugo Xavier, Carla, Talita, Cristiane, Andreza, Sandra, Tati, Isis e Heriberto.

À Daniel Alves, pela paciência e dedicação para contribuição no meu trabalho, por dedicar o seu tempo e esforço nas análises realizadas. Pelo empenho nesse projeto e por sempre segurar minha mão principalmente quando mais precisei, te dedico esse projeto amigo!

As técnicas dos laboratórios, Patrícia, Aline e Juliete por toda dedicação e empenho para comigo, aprendi muita coisa com os ensinamentos científico e ensinamentos de vida com vocês.

Agradeço à Evelyn Vasvary, minha melhor amiga, a irmã que DEUS me concedeu, desde a graduação, para trilharmos juntas esse caminho acadêmico, obrigada por sempre me ouvir, me aconselhar, abrir meus olhos, falar as verdades, segurar minha mão, compartilhar alegrias, vitórias e derrotas, é muito bom ter com quem contar, um ombro pra chorar e alguém para brindar! Te amo amiga linda!

Agradeço à querida amiga Rosângela, pessoa de um enorme coração e uma inteligência admirável, a qual tenho a honra de conviver.

Agradeço à Vitor Cajueiro, por todo carinho e ótimos momentos vividos, pois ninguém cruza nosso caminho por acaso, e nós não entramos na vida de alguém sem nenhuma razão. Obrigada coração!

Agradeço imensamente a excelente profissional Amanda Resende, minha psicóloga, que me acompanha, me orienta e me faz organizar toda minha vida.

Com muito carinho, agradeço aos amigos(as), Katiane, Priscila, Shirleide, Maynara, Claudinha, Adriano, Celinho, Naiane, Camila, Silvinha, Bruna, Rafael, Amélia e aos demais amigos, amigas, pacientes e alunos, que de alguma forma contribuíram com a realização deste sonho, onde estiveram presente em algum momento dessa trajetória, transmitindo-me confiança, carinho, compartilhando alegrias e tristezas. Imensa gratidão!

Agradeço ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

OLIVEIRA, J.M. Obtenção de microcápsulas do extrato de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.), pelo processo de gelificação iônica: caracterização dos compostos bioativos e capacidade

antioxidante [Dissertação]. São Cristóvão: Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe; 2020.

RESUMO

Na diversidade da flora brasileira, a espécie vegetal erva cidreira, *Melissa officinalis* L., é uma das espécies mais importantes da família *Lamiaceae*. A utilização de extratos vegetais, tem tido escopo emergente pela comunidade científica, devido a sua composição química enriquecida pela presença de compostos bioativos de origem natural. O grande interesse em compostos bioativos, impulsiona o desenvolvimento de inovadoras pesquisas e tecnologias, que identifiquem as propriedades e aplicações dessas substâncias, que ao serem consumidos por via oral, tem os seus ingredientes bioativos submetidos ao rápido metabolismo gastrointestinal, sofrendo transformação na sua estrutura química e mudanças em sua bioatividade. A fim de garantir os seus benefícios para a saúde, é imprescindível assegurar a estabilidade no trato gastrointestinal e permitir uma liberação controlada. A proteção dos ingredientes bioativos na forma de revestimento e encapsulamento se faz necessária, para aumentar a estabilidade e oferecer liberação controlada, além de melhorar a biodisponibilidade desses compostos. Como também, são necessários estudos detalhados para caracterizar os constituintes existentes nos extratos vegetais. Objetivou-se obter microcápsulas do extrato de erva cidreira, *Melissa officinalis* L., pelo processo de gelificação iônica, avaliando as mudanças físico-químicas e os efeitos na preservação dos compostos bioativos. O presente estudo avaliou a composição química de uma das ervas mais consumidas entre a população, a *Melissa officinalis* L, erva cidreira, realizando análises físico químicas, carotenoide e clorofila, análises de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, antioxidantes, FTIR e compostos voláteis, definindo assim o extrato obtido da amostra vegetal in natura em infusão à 80°C, como melhor forma de extração dos compostos bioativos para submissão do processo de microencapsulação. Foi elaborado como produto final, uma infusão de erva cidreira contendo as microcápsulas e após as análises realizadas, obteve-se satisfatórios valores para as variáveis de resposta dos compostos fenólicos totais, flavonóides totais, antioxidantes e compostos voláteis, sendo indicada a utilização da erva cidreira em sua forma in natura através de infusão à 80°C para melhor aproveitamento dos compostos bioativos.

Palavras-chave: *Melissa officinalis* L. Gelificação iônica. Bioativos. Microcápsulas.

ABSTRACT

In the diversity of Brazilian flora, the plant species lemongrass, *Melissa officinalis* L., is one of the most important species in the Lamiaceae family. The use of plant extracts has been emerging in scope by the scientific community, due to its chemical composition enriched by the presence of bioactive compounds of natural origin. The great interest in bioactive compounds, stimulates the development of innovative research and technologies, which identify the properties and applications of these substances, which, when consumed orally, have their bioactive ingredients subjected to rapid gastrointestinal metabolism, undergoing transformation in their chemical structure and changes in its bioactivity. In order to guarantee its health benefits, it is essential to ensure stability in the gastrointestinal tract and allow a controlled release. The protection of bioactive ingredients in the form of coating and encapsulation is necessary to increase stability and offer controlled release, in addition to improving the bioavailability of these compounds. As well as, detailed studies are needed to characterize the constituents in plant extracts. The objective was to obtain microcapsules of the lemon balm extract, *Melissa officinalis* L., by the process of ionic gelation, evaluating the physical-chemical changes and the effects on the preservation of bioactive compounds. The present study evaluated the chemical composition of one of the most consumed herbs among the population, *Melissa officinalis* L, lemon balm, performing physical chemical, carotenoid and chlorophyll analyzes, analysis of total phenolic compounds, total flavonoids, antioxidants, FTIR and volatile compounds, thus defining the extract obtained from the fresh plant sample in infusion at 80 ° C, as the best form of extraction of bioactive compounds for submission to the microencapsulation process. An infusion of lemon balm containing the microcapsules was prepared as the final product and after the analyzes carried out, satisfactory values were obtained for the response variables of the total phenolic compounds, total flavonoids, antioxidants and volatile compounds, indicating the use of the lemon balm in its form. in natura through infusion at 80 ° C for better use of bioactive compounds.

Keywords: *Melissa officinalis* L. Ionic gelation. Bioactiv. Microcapsules

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Agentes encapsulantes usados para microencapsulação de acordo com sua origem.....	43
Tabela 2 - Análises dos compostos bioativos dos 4 tipos de extratos da erva cidreira (<i>Melissa officinalis</i> L.)	66
Tabela 3 - Análises do teor de antioxidantes dos 4 tipos de extratos da erva cidreira (<i>Melissa officinalis</i> L.)	69
Tabela 4 - Caracterização físico-química da amostra de erva cidreira (<i>Melissa Officinalis</i> L.) in natura e da microcápsula do extrato aquoso de erva cidreira por infusão à 80°C.....	71
Tabela 5 - Valores do teor de °Brix nos quatros tipos de extratos de erva cidreira.	74
Tabela 6 - Valores de °Brix da amostra vegetal in natura e das amostras processadas.	75
Tabela 7.- Valores médios da análise dos padrões colorimétricos da erva cidreira	76
Tabela 8 - Análise da qualidade microbiológica do chá de erva cidreira com microcápsulas do extrato de erva cidreira processados segundo as BPF E BPM.	78
Tabela 9 - Resultados das análise de antioxidantes por DDPH, FRAP, ABTS da microcápsula e do produto final, infusão com as microcápsulas analisados separadamente.	79
Tabela 10- Resultados das análise de compostos bioativos (fenólicos e flavonoides totais) da microcápsula e do produto final, infusão com as microcápsulas analisados separadamente ...	79
Tabela 11 - Compostos voláteis encontrados na amostra vegetal de erva cidreira in natura. .	87
Tabela 12 - Compostos voláteis encontrados nas microcápsulas do extrato de erva cidreira.	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- <i>Melissa officinalis</i> L.	21
Figura 2- Estruturas químicas dos componentes ativos da erva cidreira (<i>Melissa officinalis</i> L.)	23
Figura 3- Estrutura química dos flavonóides.....	29
Figura 4- Estrutura química do ABTS.....	34
Figura 5- Estabilização do radical ABTS·+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.	34
Figura 6- Estrutura do 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina ([Fe ³⁺ (TPTZ) ₂] ³⁺).	35
Figura 7- Redução do complexo [Fe ³⁺ (TPTZ) ₂] ³⁺ em [Fe ²⁺ (TPTZ) ₂] ²⁺).	36
Figura 8- Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe ³⁺	36
Figura 9- Estabilização do radical livre DPPH.....	37
Figura 10- Fluxograma das análises e procedimentos realizados a partir da obtenção da matéria prima.	50
Figura 11 - Esquema do processo de microencapsulação do extrato aquoso da erva cidreira (<i>Melissa officinalis</i> L.).....	55
Figura 12 - Imagem ilustrativa do processo de microencapsulação do extrato de erva cidreira por gelificação iônica.....	55
Figura 13 - Imagem das microcápsulas do extrato de erva cidreira obtidas pelo processo de microencapsulação por gelificação iônica.	55
Figura 14 - Imagem ilustrativa do processamento do produto final: Infusão de erva cidreira com microcápsulas de erva cidreira.....	56
Figura 15 - Imagem da folha in natura da erva cidreira (<i>Melissa officinalis</i> L.), da folha in natura triturada, da microcápsula e do chá de contendo as microcápsulas.....	57
Figura 16 - Medição da microcápsula com o auxílio de um paquímetro digital Pantec	58
Figura 17 - Parâmetros de cor segundo método CIELAB.....	59
Figura 18 - Curva de secagem da erva cidreira (<i>Melissa officinalis</i> L.) representando o comportamento da umidade em relação ao tempo sob temperatura constante.....	65
Figura 19 - Teor de cinzas totais da <i>Melissa officinalis</i> L. in natura, seca e após o processo de microencapsulação.....	73
Figura 20 - Espectro FTIR da amostra vegetal de erva Cidreira (<i>Melissa officinalis</i> L.) in natura, em duplicata.....	83

Figura 21 - Espectro FTIR da Microcápsula do extrato in natura/infusão de erva cidreira (<i>Melissa officinalis</i> L.) em duplicata.	83
Figura 22 - Espectro FTIR comparando a infusão de erva cidreira (<i>Melissa officinalis</i> L.) no tempo 0 e após 1 semana de armazenamento , em duplicata.	84
Figura 23 - Espectro FTIR da erva cidreira in natura, da microcápsula e da infusão com microcápsulas no tempo zero.	84
Figura 24 - Espectro FTIR da erva cidreira in natura, da microcápsula e da infusão com microcápsulas após 1 semana de armazenamento.	85

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Equação para o cálculo do % de varredura do radical DPPH.....	54
Equação 2 – Equação para o cálculo de teor de cinzas totais.....	60
Equação 3 – Equação para o cálculo do teor de carotenoides totais	61
Equação 4 – Equação para o cálculo do teor de clorofila total.	62

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVO GERAL	18
•	2.1.ESPECÍFICO	18
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
•	3.1.Plantas Medicinais.....	19
•	3.2.<i>Melissa officinalis</i> L. (erva cidreira)	20
•	3.3.Compostos bioativos.....	26
•	3.4.Métodos de extração de substâncias bioativas.....	30
•	3.5.Antioxidantes	33
•	3.6.Microencapsulação.....	37
•	3.7.Microencapsulação por gelificação iônica.....	39
•	3.8.Agentes encapsulantes.....	42
•	3.9.Armacenamento após o processo de microencapsulação por gelificação iônica 45	
•	3.10.Análise FTIR (espectroscopia na região do infravermelho por transformada nano-Fourie).....	46
•	3.11. Análise de compostos voláteis.....	47
4	MATERIAL E MÉTODOS	49
•	4.1.Local de desenvolvimento da pesquisa	49
•	4.2.Matéria-prima	49
•	4.3.Preparo dos extratos	50
•	4.4.Análise de Fenólicos totais	52
•	4.5.Análise de Flavonóides totais	52
•	4.6.Análise da capacidade antioxidante pelo método ABTS - captura do radical ABTS+ (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)	53
•	4.7.Análise da capacidade antioxidante pelo método FRAP - poder redutor do Ferro (FRAP)	53
•	4.8.Análise da capacidade antioxidante pelo método DPPH – (<i>Captura do radical livre - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil</i>)	53
•	4.9.Obtenção das Microcápsulas de erva cidreira.....	54
•	4.10.Obtenção do produto final.....	56
•	4.11.Caracterização das Microcápsulas.....	57
4.11.1.	Tamanho das microcápsulas	57
4.11.2.	Peso das microcápsulas	58
4.11.3.	Rendimento	58

•	4.12. Análises realizadas com amostra vegetal de erva cidreira, com os extratos e as microcápsulas.	58
	4.12.1. Análise de cor.....	59
	4.12.2. Teor de Cinzas	60
	4.12.3. Teor de Umidade por Infravermelho	60
	4.12.4. Potencial hidrogeniônico (pH).....	60
	4.12.5. Atividade de água (Aw).....	61
	4.12.6. Sólidos Solúveis (°Brix).....	61
	4.12.7. Carotenóides	61
	4.12.8. Clorofila.....	62
•	4.13. Análise microbiológica	62
	4.13.1. Coliformes totais.....	62
•	4.14. ANÁLISE FTIR (espectroscopia na região do infravermelho por transformada nano-Fourie)	63
•	4.15. Extração, separação e identificação dos compostos voláteis por cromatografia gasosa (GC) acoplada ao espectro de Massa (MS).	63
•	4.16. Análise estatística.....	63
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
•	5.1. Obtenção da curva de secagem para preparo do extrato a partir da amostra vegetal seca.	65
•	5.2. Análise dos compostos bioativos e atividades antioxidantes do extratos	66
•	5.3. Caracterização das microcápsulas.....	70
•	5.4. Caracterização físico-química da amostra in natura de erva cidreira e das microcápsulas.....	71
•	5.5. Análise microbiológica do produto final	77
•	5.6. Análises dos compostos antioxidantes das microcápsulas e do produto final	78
•	5.7. Análise de espectroscopia na região do infravermelho por transformada nano-Fourier (FTIR)	82
•	5.8. Análise de compostos voláteis.....	86
6	CONCLUSÃO.....	93
7	REFERÊNCIAS	94

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que sejam conhecidas cerca de 390 mil espécies de plantas no mundo (RBG, 2017), e no Brasil se concentram uma das maiores diversidades biológicas do planeta, abrigando cerca de 46.097 espécies nativas de plantas (ZAPPI et al., 2015), mas, apesar dessa elevada riqueza, é utilizada, cerca de mil espécies (FAO, 2018) e atualmente cultiva-se cerca de 300 para diversas finalidades como alimentação, medicamentos e outros usos (REIFSHNEIDER; NASS; HENZ, 2015).

Na medicina tradicional, a erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.) é comumente submetida a infusão e consumida na forma de chá, sendo usado para tratar diversas doenças como problemas gastrointestinais, dores de cabeça, e febre (DERMARDEROSIAN; BEUTLER, 2014; SHAKERI; SAHEBKAR; JAVADI, 2016).

Amplamente utilizados como fontes antioxidantes, os extratos vegetais possuem natureza antioxidativa ou prooxidativa e são muito complexos, dependendo de vários fatores como: genótipo, condições ambientais, concentrações de moléculas antioxidantes nos extratos obtidos, partes utilizadas e meio de extração empregado (FARVIN; ALARGASAMY, 2018). O consumo de antioxidantes naturais tem tido grande interesse pela população, por estarem relacionados com a redução dos riscos de desenvolvimento de doenças crônicas. Além disso, são necessários estudos detalhados para caracterizar os constituintes existentes nos extratos vegetais e a melhor forma de utilização.

A utilização de extratos vegetais como aditivos alimentares tem tido escopo emergente pela comunidade científica, devido a expectativa de elaborar produtos alimentares funcionais, com composição química enriquecida pela presença de compostos bioativos de origem natural (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). São exemplos de ingredientes funcionais com potencial de aplicação em áreas alimentícias e farmacêuticas, os compostos bioativos de origem natural tais como fitoquímicos antioxidantes e os compostos fenólicos (ĐORĐEVIĆ et al., 2015; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Atualmente, o uso de extratos vegetais tornou-se um negócio comercial sem uma compreensão profunda de sua composição. Portanto, é de fundamental importância conhecer a composição de plantas, pois os seus extratos, têm muitos efeitos benéficos para a saúde devido à grande diversidade de moléculas de eliminação de radicais livres, como fenólicos,

antocianinas, carotenóides e vitaminas (GUNATHILAKE; RANAWEERA; RUPASINGHE, 2018).

O grande interesse em compostos bioativos, impulsiona o desenvolvimento de inovadoras pesquisas e tecnologias, que identifiquem as propriedades e aplicações dessas substâncias, que ao serem consumidos por via oral, tem os seus ingredientes bioativos submetidos ao rápido metabolismo gastrointestinal, sofrendo transformação na sua estrutura química e mudanças em sua bioatividade. A fim de assegurar a estabilidade no trato gastrointestinal e permitir uma liberação controlada no alvo apropriado, a proteção dos ingredientes bioativos na forma de revestimento e microencapsulação se faz necessária, para aumentar a estabilidade e oferecer liberação controlada, além de melhorar a captação limitada e a biodisponibilidade desses compostos (ĐORĐEVIĆ et al., 2015).

Através da técnica de microencapsulação por gelificação iônica, é possível ampliar as formas de consumo de frutas, hortaliças e ervas, mantendo suas características naturais, e obtendo assim os seus benefícios (ALMEIDA et al., 2014; OLIVEIRA; PAGANI, 2011).

2 OBJETIVO GERAL

Obter de microcápsulas do extrato de erva cidreira (*Melissa Officinalis* L.), pelo processo de gelificação iônica, avaliando a caracterização físico química, os compostos bioativos e capacidade antioxidante.

2.1. ESPECÍFICO

- Definir o melhor forma de obtenção do extrato para ser microencapsulado da erva cidreira (*Melissa Officinalis* L.)
- Microencapsular o extrato de erva cidreira pelo processo de gelificação iônica utilizando o alginato de sódio como agente encapsulante.
- Realizar a caracterização físico-química do extrato de erva cidreira e das microcápsulas (cor, umidade, cinzas, pH, atividade de água, brix,)
- Realizar análises de carotenóides totais, clorofila, fenólicos totais e flavonoides totais.
- Realizar as análises antioxidantes do extrato e das microcápsulas, pelos métodos: DPPH - (captura do radical livre - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil), ABTS - captura do radical ABTS+ [2,2-azino-bis(3etilbenzotiazolina-6sulfônico)] e FRAP - poder redutor do ferro.
- Realizar a análise FTIR (espectroscopia na região do infravermelho por transformada nano-Fourie)
- Realizar análise de compostos voláteis por cromatografia gasosa para identificação dos compostos presentes na amostra.
- Verificar as mudanças físico-químicas e dos compostos bioativos após a microencapsulação.
- Obtenção de um chá de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) com as microcápsulas do extrato aquoso de erva cidreira.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Plantas Medicinais

As plantas medicinais, aquelas que possuem em sua composição substâncias utilizadas com ação terapêutica, adquiriram grande relevância na medicina popular e vem sendo utilizadas tradicionalmente para o tratamento de várias patologias (CARVALHO, 2015). Considerando o crescente aumento do uso de plantas medicinais, relacionado principalmente com o baixo custo e facilidade de acesso da população, os mercados nacional e internacional na área de fitoterápicos vem ganhando grande expansão (CAMARGO et al., 2016; MARTINS et al., 2016). O conhecimento empírico utilizado por várias gerações, hoje são analisados nos laboratórios para buscar evidências de suas aplicabilidades terapêuticas, sendo assim, realizadas pesquisas com diversas espécies vegetais afim de contribuir com o desenvolvimento de agentes fitoterapêuticos padronizados com comprovada eficácia, segurança e qualidade.

O chá é um dos alimentos mais consumido no mundo, perdendo apenas para a água. O hábito de consumir chá vem desde a antiguidade, quando as plantas eram utilizadas como medicamentos para a prevenção, a cura e o tratamento de distúrbios, disfunções ou doenças, em seres humanos e (BATISTA et al., 2009; LAMARÃO; FIALHO, 2009; SAIGG; SILVA, 2009). De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2014), segundo a RDC nº 26, o chá medicinal é uma droga vegetal com fins medicinais a ser preparada por meio de infusão, decocção ou maceração em água pelo consumidor. A forma mais comum de consumo é a infusão que consiste em verter água potável fervente sobre a droga vegetal e, em seguida, tampar ou abafar o recipiente por um período de tempo determinado, esse método indicado para partes de drogas vegetais de consistência menos rígida, tais como folhas, flores, inflorescências e frutos, ou com substâncias ativas voláteis ou ainda com boa solubilidade em água.

No estudo de Valeriano e colaboradores (VALERIANO et al., 2019), no qual foi investigado o conhecimento e a utilização de plantas medicinais, 92% dos entrevistados relataram ter conhecimentos e hábitos de utilizar plantas medicinais, sendo as folhas, a parte mais utilizada, e a principal forma de preparo é a infusão/chá. O uso de plantas medicinais é uma prática ainda comum entre a população atual, fato esse também observado por outros trabalhos (BERNARDES, 2012; CASTELLUCCI, 2000; LUCENA et al., 2013), nos quais as folhas das plantas medicinais são mais utilizadas que as demais partes da planta, devido à facilidade de coleta. Além disso, os autores salientam que nas folhas se concentram a maior

parte dos princípios ativos. Ademais, é importante ressaltar que a maioria das plantas utilizadas para tratamentos de enfermidades são de hábitos herbáceos, apresentando folhas durante todo o ano sendo, portanto, fácil adquiri-las (FREITAS et al., 2015). Analisando as plantas utilizadas com maior frequência, a erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.), é sempre bastante ressaltante (BERNARDES, 2012; CASTELLUCCI, 2000; LUCENA et al., 2013; VALERIANO et al., 2019).

As plantas da família Lamiaceae pertencem à ordem *Tubiflorae Lamiales*, abrangendo em média 200 gêneros e 3.200 espécies, distribuídas em todo o mundo. Grande parte das espécies é conhecida pelo seu uso na alimentação, seja na forma de condimentos ou chás, e muitas delas possuem atividade biológica já relatada na literatura, por diversos autores (LORENZI; MATOS, 2002). Dentre algumas espécies brasileiras que mais se destacam está a *Hyptis suaveolens* L. (alfavacão), *H. mutabilis* e *H. atrorubens*; *Lavandula angustifolia* Mill (alfazema); *Leonotis nepetaefolia* L. (cordão-do-frade); *Leonurus sibiricus* L. (macaé) L. *cardiaca* e L. *sibiricus*; *Leucas martinicensis* (Jacq.) R. Br. (catinga-de-mulata) *Marrubium vulgare* L. (hortelã-grande), *Melissa officinalis* L. (erva cidreira), *Mentha avensis* (hortelã-do-Brasil), *M. piperita* L. (hortelã), *M. pulegium* L. (poejo), *Ocimum basilicum* L. (manjerição), *O. selloi* Benth., *O. vulgare* L. (orégano), *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), *Salvia officinalis* L. (sálvia) (DE-LA-CRUZ, 1997; JOLY, 1975; LORENZI; MATOS, 2002).

Em relação às famílias botânicas de uso medicinal no Brasil, Zago e De Moura (2018), em um levantamento cienciométrico, descrevem que as famílias *Fabaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae* e *Euphorbiaceae* foram as que tiveram maior destaque e geraram maior número de estudos científicos nos últimos 22 anos.

3.2. *Melissa officinalis* L. (erva cidreira)

Na diversidade da flora brasileira, a espécie vegetal erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) (**Figura 1**), com classificação taxonômica: espécie gênero *Melissa*, família *Lamiaceae*, ordem *lamiales*, classe *Magnoliopsida*, divisão *Tracheophyta*, subdivisão: *Speramtophyta* e reino *Plantae*, é uma das espécies mais importantes da família *Lamiaceae*. (BASAR; ZAMAN, 2013). Originária da região da Ásia ocidental, sul da Europa, norte da África e Irã, porém, apresenta bom desenvolvimento em várias regiões do mundo, inclusive em solo brasileiro. (BAHTIYARCA BAGDAT, 2006; BASAR; ZAMAN, 2013). Três espécies de plantas são

comumente conhecidas como erva cidreira em diferentes regiões do Brasil, a *Melissa officinalis* L., *Cymbopogon citratus* e a *Lipia alba*, mas, a espécie *Melissa Officinalis* L. é considerada como erva cidreira verdadeira. Dependendo da região, também apresenta diferença nos nomes populares como: melissa, erva cidreira verdadeira, citronela, melissa romana e chá da França (SODRÉ, 2007).

Figura 1- *Melissa officinalis* L.



(Fonte: Embrapa)

Melissa officinalis L. é uma erva perene, herbácea, com vida média de 3 anos, cresce na faixa de 70 a 150 cm de altura, com rizoma e caule ramificado e raiz fibrosa. Suas folhas são pequenas, oposta-cruzada, apresentam superfície aveludada, macia e com bordas dentadas, tendo de 2 a 8 cm de comprimento, em formato de coração, com lâminas pelosas ovaladas-triangulares, base levemente codiforme a ápice pouco agudo, face central de cor verde-escuro e a dorsal mais clara, com nervuras salientes. Suas flores são brancas ou rosa pálido e forma pequenos aglomerados que florescem durante o verão. (GHAHREMAN, 1993; ÍLISULU, 1992). A erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) possui um aroma cítrico devido à presença de isômeros citrais como geral e geranial, bem como uma quantidade minuciosa de acetato de geranil e citronelal (SHAKERI; SAHEBKAR; JAVADI, 2016).

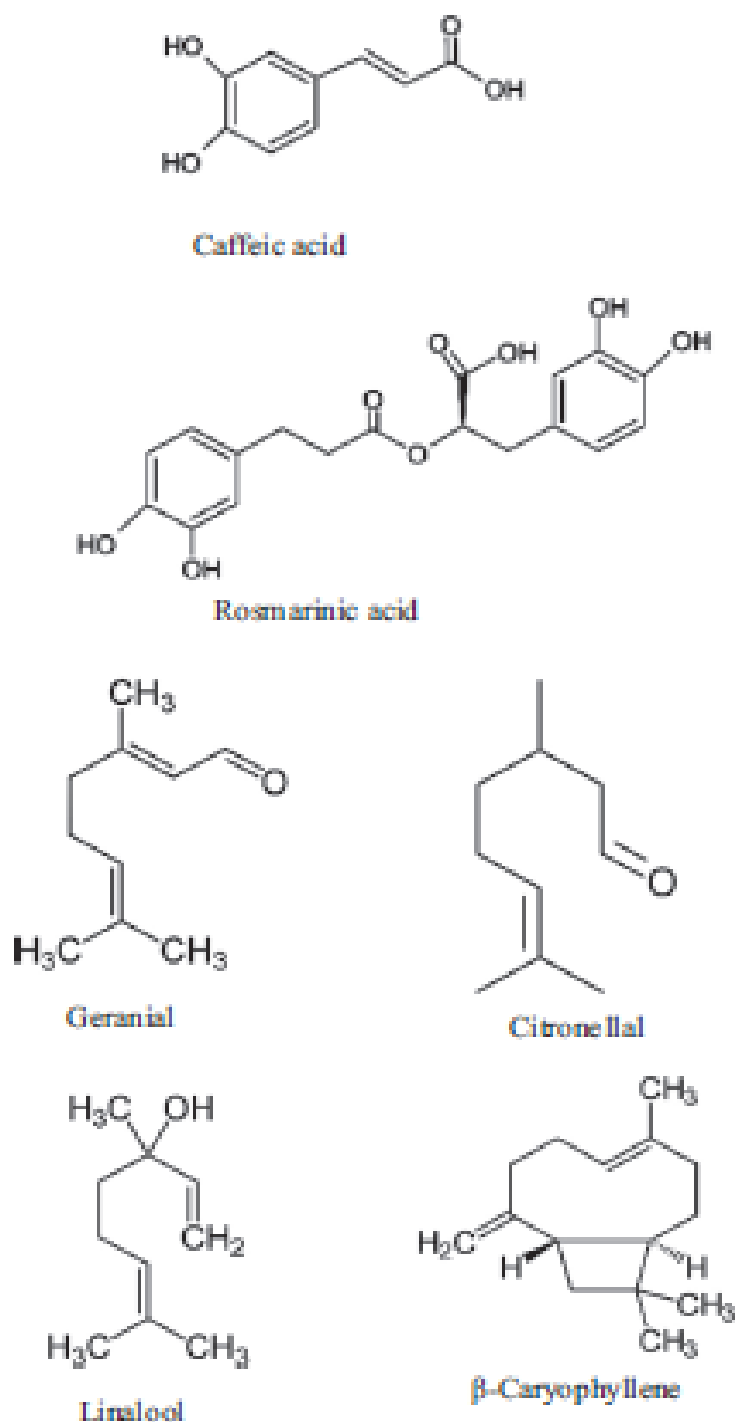
Em solo brasileiro, a planta não produz florescência, como processo de adaptação, diferente do que ocorre em seu habitat de origem (LAUNERT, 1981). Em Sergipe, o cultivo comercial de *M. Officinalis* L. é realizado agregando replantio à cultura posterior ao primeiro corte, devido à alta taxa de mortalidade de plantas nas condições climáticas do nordeste

brasileiro. Tendo em vista essas variáveis, a produção de matéria-prima fitoterápica exige um constante acompanhamento biológico e agrônômico (BLANK et al., 2005; MAY et al., 2009).

O maior interesse nas plantas medicinais, são os princípios ativos, que são produtos do metabolismo secundário, constituídos por diversos grupos: mucilagens, óleos essenciais, alcaloides, taninos, bioflavonóides, glicosídeos, ácidos orgânicos, antraquinonas, compostos fenólicos e inorgânicos, cumarina e outros (DI STASI, 1995; FURLAN, 1998). Por conter citral, um metabólito secundário pertencente à classe dos óleos voláteis, a *M. officinalis* L. possui odor semelhante ao do limão, e é intensificado quando a planta é seca (REIS et al., 2009).

Nas folhas de *Melissa officinalis* L são encontrados componentes químicos como mostra a **Figura 2**: ácido rosmarínico, ácido fenólico, flavonol, triterpeno, ácido gálico, geranial, neral, catequina, luteolina, hesperidina, ácido ursólico, ácido oleanólico (SHAKERI; SAHEBKAR; JAVADI, 2016), citronelal, citral, β -cariofileno, germancreno D, ocimeno e citronelol (LORENZI; MATOS, 2002; SILVA et al., 2005; SIMÕES et al., 2016). Também são constituídas de glicose, vitaminas E e C, que têm relevante atividade inativadora de radicais livres (DIAS et al., 2012). Uma infinidade de fatores farmacológicos significativos mencionadas atividades atribuídas aos triterpeno e compostos polifenólicos desta planta (SHAKERI; SAHEBKAR; JAVADI, 2016).

Figura 2- Estruturas químicas dos componentes ativos da erva cidreira (*Melissa officinalis* L.)



Fonte: SHAKERI A., SAHEBKAR A., JAVADI B., (2016)

Diversos estudos mostram uma ampla utilização da erva cidreira para tratamento de várias patologias como: vertigem, problemas digestórios, dor de cabeça, enxaqueca, síncope,

asma, bronquite, insuficiência cardíaca, arritmias, epilepsia, reumatismo (CAROCHO et al., 2015), hipertensão (KWON; VATTEM; SHETTY, 2006), herpes labial (OBMANN, 2010). Apresentando ainda boa atividade antiangiogênica (PARK et al., 2015), ação antioxidante (SPIRIDON et al., 2011), ação anti-inflamatórias e antinoceptiva (BIRDANE et al., 2007), efeitos benéficos na redução de hiperglicemia e hiperlipidemia (CHUNG et al., 2010; WEIDNER et al., 2014), atividade antimicrobiana (HUSSAIN et al., 2011; ROMEO et al., 2008), atividade antiviral (MORADI et al., 2016) e antiprotzoal (CUNHA et al., 2016).

No estudo de Dimitris et al. (2020), investigou os potenciais efeitos benéficos do uso do extrato de *Melissa officinalis* L. e mostrou que a atividade anti-psoriática da decocção confirmou o tradicional uso desta planta como antioxidante, cicatrização de feridas e agente de reparo da barreira cutânea. A eficácia anti-psoriática in vivo em camundongos foi estimado através de avaliação clínica e histopatológica e medidas de TEWL e hidratação, onde mostraram que a decocção de *Melissa officinalis* L., principalmente e secundariamente o extrato de diclorometano contribuiu significativamente para o tratamento da psoríase. A decocção parece capaz de restabelecer a fisiologia da pele, diminuindo a secura e melhorar a função de barreira protetora.

No estudo de Magalhães et al. (2018), mostraram a atividade inibitória do crescimento de células tumorais utilizando cinco diferentes extratos (metanólico, etanólico, hidrometanólico e hidroetanólico) em três tipos de células tumorais humanas, onde todos os extratos reduziram o crescimento das células tumorais de diferentes tipos de câncer.

Haybar et al. (2018) analisaram os efeitos da suplementação de *Melissa officinalis* L., para depressão, ansiedade, estresse e distúrbios do sono em pacientes com angina crônica estável, através de um ensaio clínico duplo-cego controlado por placebo em 80 pacientes, onde um grupo tomou 3 g de suplemento e outro grupo o placebo, diariamente durante 8 semanas. No final do estudo, o grupo de intervenção que recebeu cápsulas com *Melissa Officinalis* L. teve uma redução significativa nos escores de depressão, ansiedade, estresse e distúrbio total do sono, verificado pelos testes DASS-21 e índice de qualidade do sono de Pittsburgh, em comparação com o grupo placebo.

Pesquisas recentes, determinaram que o extrato de erva cidreira inibe a obesidade induzida por dieta e esteatose hepática não-alcoólica em camundongos fêmeas ovariectomizados. Cada grupo de ratos receberam um tipo de dieta: dieta com baixo teor de gordura, dieta rica em gordura e dieta rica em gordura suplementada com o extrato de erva

cidreira (*Melissa officinalis* L.), durante 15 semanas. Foram avaliados marcadores de lipídeos séricos e de lesão hepática, que se mostraram melhorados nos ratos que receberam a suplementação com *Melissa officinalis* L., assim como, menores níveis no acúmulo de lipídios hepáticos, células inflamatórias e níveis de colágeno, e estes ainda exibiram uma tendência de normalizar a expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico, inflamação e fibrose, mostrando que a suplementação com *M. officinalis* L. atua inibindo a angiogênese, podendo assim ajudar a regular a obesidade, esteatose hepática e fibro-inflamação em mulheres pós menopausa (KIM et al., 2017).

No estudo de Saberi et al. (2016), demonstram as propriedades anti-ulcerosas de extratos metanólicos de *Melissa officinalis* L. sobre úlceras gástricas em ratos experimentais, devido ao aumento das defesas antioxidantes enzimáticas e à inibição da peroxidação lipídica do extrato de *M. officinalis* L, podendo assim apresentar efeito gastroprotetor.

O interessante potencial antimicrobiano da erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.) e dos metabólitos secundários foram investigado nos estudo com os novos glicosídeos antimicrobianos do triterpeno da erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.) e destacaram o potencial da erva-cidreira como uma fonte promissora de antimicrobianos naturais e conservantes alternativos de alimentos, contribuindo amplamente para suas aplicações nutroterapêuticas, farmacêuticas e relacionadas a alimentos no futuro (ABDEL-NAIME et al., 2019).

Com base nos vários benefícios da *M. officinalis* L., investigaram a composição química e a atividade antioxidante de diferentes frações do extrato de *M. officinalis*, onde a fração acetato de etila apresentou o maior teor de flavonóides, assim como maior atividade antioxidante, quando comparadas com as demais frações testadas, devendo assim, ser mais investigada, devido a sua atividade antioxidante, anticolinesterásica e seu possível uso no tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como a doença de Alzheimer (PEREIRA et al., 2014).

A família *Lamiaceae* é uma das maiores famílias botânicas do planeta, constituída por aproximadamente 236 gêneros e média de 6900 a 7200 espécies (AGHAKHANI; KHARAZIAN; LORI GOOINI, 2018). Os diversos estudos já realizados com este grupo vegetal mostraram que, além de serem usadas como condimentos, as espécies que compõem este grupo botânico apresentam grande capacidade de eliminar radicais livres (TZIMA; BRUNTON; RAI, 2018) e são relevantes comercialmente, como gêneros *Plectranthus*, *Salvia*,

Ocimum e *Mentha*, aos quais são atribuídos com uma rica diversidade de benefícios etnobotânicos (ARUMUGAM; SWAMY; SINNIHAH, 2016).

3.3. Compostos bioativos

Os alimentos contêm compostos bioativos como, antioxidantes, peptídeos, carboidratos, lipídios e glucosinolatos, que são muito importantes para a saúde humana (DAY et al., 2009). Compostos bioativos são compostos fitoquímicos presentes nos alimentos que podem modular processos metabólicos e contribuir para a melhoria da saúde. Possuem diversos efeitos benéficos, como atividade antioxidante, inibição ou indução de enzimas, inibição das atividades dos receptores, e indução e inibição da expressão gênica (CORREIA et al., 2012). Os compostos bioativos são encontrados em frutas, vegetais, ervas e grãos (CARBONELL-CAPELLA et al., 2014; JOANA GIL-CHÁVEZ et al., 2013). Constituem uma classe bastante heterogênea de compostos como, compostos polifenólicos, carotenóides, fitoesteróis, tocoferóis e compostos organosulfurados) com diferentes estruturas químicas, podendo ser hidrofílicas ou lipofílicas, variada distribuição na natureza, ampla gama de concentrações nos alimentos, eficácia contra espécies oxidativas e especificidade e ação biológica (CARBONELL-CAPELLA et al., 2014; PORRINI; RISO, 2008).

Porém, a biodisponibilidade oral dos compostos bioativos é bastante afetada pela liberação restrita de compostos de matriz vegetal, pela solubilidade no fluido gastrointestinal, a permeabilidade através das células intestinais, como também por reações químicas e enzimáticas que ocorrem no trato gastrointestinal. Sendo assim necessárias, a liberação da matriz alimentar, incorporação em micelas de sais biliares, absorção pelas células epiteliais, e finalmente, incorporação nos quilomícrons com secreção no sistema linfático para uma absorção efetiva de compostos (MCCLEMENTS; XIAO, 2014).

Diante ao progressivo aumento no consumo de infusões de ervas, há uma maior necessidade de material vegetal adequado, bem como, técnicas de conservação apropriadas para manter sua qualidade, onde o emprego de uma nova tecnologia de processamento deve sempre incluir a avaliação de possíveis mudanças nos perfis fenólicos do produto alimentício aos quais essa tecnologia é aplicado (PEREIRA et al., 2018).

O processamento de alimentos tem grande impacto sobre os constituintes químicos, físicos e sensorial do produto final. Diversas tecnologias aplicadas podem alterar o conteúdo de compostos bioativos modificando suas propriedades funcionais, como a biodisponibilidade, bioatividade e bioacessibilidade, e seus benefícios para a saúde. À medida que a preocupação com a saúde e a demanda por alimento com compostos bioativos aumentam, são realizadas pesquisas para o desenvolvimento de novas tecnologias de processamento a fim de garantir melhores propriedades nutricionais e funcionais, bem como melhorar a qualidade de um produto. (GALANAKIS et al., 2013; GALANAKIS; FOUNTOULIS; GEKAS, 2012; TSAKONA; GALANAKIS; GEKAS, 2012; WONG et al., 2015).

Os compostos bioativos naturais possuem uma grande diversidade de estruturas e funcionalidade de moléculas e são utilizados para a produção de alimentos funcionais, nutracêuticos e aditivos alimentares. Alguns desses compostos podem ser encontrados na natureza em alta concentração, como polifenóis, e outros, em baixas concentrações, de modo que dificulta a obtenção de quantidades suficientes devido a sua diversidade estrutural e complexidade, necessitando assim de desenvolvimento de tecnologias avançadas que permitam melhorar a extração dos compostos bioativos de fontes naturais e preservar a sua integridade e funcionalidade até o momento do consumo (JOANA GIL-CHÁVEZ et al., 2013).

É evidente que os compostos fenólicos e flavonóides são substâncias com elevada capacidade antioxidante, tal atividade se deve principalmente às suas propriedades de óxido-redução, as quais podem desempenhar um importante papel na absorção e neutralização radicais livres, apresentam também, propriedades antiproliferativa e anti-inflamatória (GUTIÉRREZ-GRIJALVA et al., 2017; SOETHE et al., 2016).

Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até moléculas com alto grau de polimerização. Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas. Os fenólicos, em plantas, são essenciais no crescimento e reprodução dos vegetais, além de atuarem como agente antipatogênico e contribuírem na pigmentação (BRAVO, 2009; SHAHIDI; NACZK, 1995).

Os fenólicos, além de possuir potencial de controle das reações antioxidantes, podem apresentar propriedades fisiológicas como atividade antialérgica antiarteriogênica, antitrombótica, antimicrobiana, anti-inflamatória, vasodilatadora e cardioprotetora. (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). Os compostos fenólicos fazem parte da

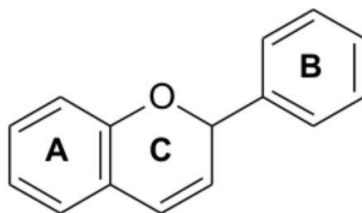
categoria de interruptores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da autoxidação.

Os compostos fenólicos interagem, preferencialmente, com o radical peroxil por estar mais prevalente na etapa da autoxidação e por possuir menor energia do que outros radicais, favorecendo a abstração do seu hidrogênio. O radical fenoxil resultante, embora relativamente estável, pode interferir na reação de propagação ao reagir com um radical peroxil, via interação entre radicais. O composto formado, por ação da luz ultravioleta e temperaturas elevadas, poderá originar novos radicais, comprometendo a eficiência do antioxidante, que é determinada pelos grupos funcionais presentes e pela posição que ocupam no anel aromático, bem como, pelo tamanho da cadeia desses grupos. Este mecanismo de ação dos antioxidantes, presentes em extratos de plantas, possui um importante papel na redução da oxidação lipídica em tecidos, vegetal e animal, pois quando incorporado na alimentação humana não conserva apenas a qualidade do alimento, mas também reduz o risco de desenvolvimento de patologias. (DECKER, 1998; JADHAV et al., 1995; NAMIKI, 1990; RAMARATHNAM et al., 1995; SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992).

Representante do grupo de substâncias fitoquímicas, os compostos fenólicos, ocorrem como metabólitos secundários em diferentes plantas, sendo pesquisado com ênfase devido à grande variedade de bioatividade e ao impacto positivo na saúde humana. Os polifenóis naturais são considerados compostos importantes devido à sua atividade antioxidante, atividades antimutagênicas e/ou anticarcinogênicas, ações anti-inflamatórias e neuro-protetoras, etc. (KUMAR; PRUTHI, 2014; KWON et al., 2007; MOORE; YOUSEF; TSIANI, 2016; TRIVELLINI et al., 2016).

Devido a sua alta atividade biológica, os compostos flavonóides e ácidos fenólicos, são conhecidos por terem sido relatados seus efeitos positivos nas prevenções de doenças crônicas (BORDOLOI et al., 2016; UMAR LULE; XIA, 2005). Os flavonóides são compostos amplamente distribuídos no reino vegetal, encontram-se presentes em frutas, folhas, sementes e em outras partes da planta na forma de glicosídeos ou agliconas. Apresentam baixo peso molecular, consistindo em 15 átomos de carbono, organizados na configuração C6–C3–C6. A estrutura química dos flavonóides consiste em dois anéis aromáticos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico, denominado anel C (**Figura 3**).

Figura 3- Estrutura química dos flavonóides.



Fonte: Hollman, Katan, 1999; Merken, Beecher, 2000

O anel aromático A é derivado do ciclo acetato/ malonato, enquanto o anel B é derivado da fenilalanina. Variações em substituição do anel C padrão resultam em importantes classes de flavonóides, como flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanóis (ou catequinas), antocianidinas e isoflavonas. As substituições dos anéis A e B podem ser de oxigenação, alquilação, glicosilação, acilação e sulfatação dos e originam diferentes compostos dentro de cada classe de flavonóides. (HOLLMAN; KATAN, 1992; MERKEN; BEECHER, 2000).

Os flavonóides apresentam atividades biológicas e farmacológicas e diversos benefícios dos flavonóides na saúde humana foram confirmados por seu potencial antioxidante (PALMA-TENANGO; SOTO-HERNÁNDEZ; AGUIRRE-HERNÁNDEZ, 2017), antivirais, antitumorais, antialérgicos e atividades anti-inflamatórias (GIL et al., 1994; WANG; LI; BI, 2018), citotóxicos, antibacteriano, antitrombótico, cardioprotetor, hepatoprotetora, neuroprotetora, antimalárica, antileishmanial, antitripanossômica e propriedades antiamebiais (FALCONE FERREYRA; RIUS; CASATI, 2012; TAPAS; SAKARKAR; KAKDE, 2008).

Devido ao seu arranjo químico, eles têm pelo menos um anel aromático contendo um ou mais grupos hidroxilas e sua ação antioxidante deve-se principalmente à sua alta tendência para quelar metais. Sendo estes antioxidantes fenólicos amplamente distribuídos na natureza, principalmente no reino vegetal e compõem um dos os grupos mais importantes de metabólitos secundários das plantas. A alimentação é a principal fonte de antioxidantes fenólicos, principalmente frutas e vegetais, e o aumento e consumo regular desses tipos de alimentos estão diretamente relacionados aos benefícios à saúde, principalmente aos efeitos preventivos para o câncer. Estes efeitos são frequentemente atribuídos à presença de compostos antioxidantes fenólicos neste tipo de matrizes alimentares (ROLEIRA et al., 2015).

No entanto, alguns fatores podem interferir na biodisponibilidade destas substâncias como: a matriz do alimento, a fermentação intestinal, o pH, a excreção biliar, o tempo de esvaziamento gástrico e o trânsito intestinal, bem como a forma química do composto de

interesse, estrutura e quantidade de outros compostos ingeridos ao mesmo tempo (GUTIÉRREZ-GRIJALVA et al., 2017).

Diversos compostos bioativos presentes em espécies vegetais podem ser considerados uma ótima alternativa frente a aditivos alimentares sintéticos, principalmente em relação às atividades antimicrobiana e antioxidante. Grande variedade de ervas têm sido utilizadas como fonte de sabor, odor e coloração aos alimentos há milhares de anos, devido a sua constituição fitoquímica rica em compostos antioxidantes. A sua atividade antioxidante está relacionada à capacidade de um composto bioativo eliminar efetivamente radicais livres, inibindo reações de lipoperoxidação, mantendo a estrutura e funções celulares e evitando outros danos oxidativos. Dentre as maiores classes de compostos antioxidantes de origem vegetal, podem se destacar as vitaminas C e E, os carotenoides (carotenos e xantofilas) e os polifenóis (flavonoides, ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos) (ORTEGA-RAMIREZ et al., 2014; ZOU et al., 2016). No entanto, é de extrema importância as análises para quantificação de compostos bioativos nos extratos vegetais.

3.4. Métodos de extração de substâncias bioativas.

Existem diversos métodos para a extração das substâncias bioativas em vegetais, dentre esses, podem ser citados os métodos tradicionais de extração, utilizando solventes orgânicos (como água, etanol, éter e metanol) e a extração supercrítica que mediante mudanças na pressão e na temperatura transforma o dióxido de carbono (CO_2) em fluido supercrítico para a extração (LEAL et al., 2003; REHMAN; HABIB; SHAH, 2004).

Sob o ponto de vista químico não há como selecionar a metodologia mais eficiente para a extração desses compostos que podem sofrer a influência de diversos fatores como a natureza do vegetal, o solvente empregado na extração, o tamanho das partículas, o tempo e a temperatura de extração (SHAHIDI; NACZK, 1995).

No que concerne a forma de extração dos compostos bioativos da matriz alimentar, o princípio utilizado para extração com solvente ou extração sólido-líquido, ocorre quando os compostos solúveis de uma matéria sólida são extraídos por um solvente líquido (AGUILERA, 2003). Onde no início do processo, o solvente entra nos capilares da matéria-prima e dissolve o extrato, produzindo assim uma solução de alta concentração. Por causa da difusão, ocorre

uma mudança da concentração entre a solução no material da extração e a solução que cerca as partículas contínuas e ao final do processo da extração, uma determinada quantidade da solução (que consiste de uma mistura de solvente e soluto extraído) é retida ainda nas partículas contínuas.

São necessários alguns fatores para a obtenção de um processo de extração, pois influenciam no rendimento do extrato e demais análises posteriores, e devem ser avaliados antes da inicialização do mesmo (GAMSE, 2002), a matéria-prima deve ser preparada de forma que o extrato possa ser dissolvido pelo solvente em pouco tempo, pois dependendo da matriz, o extrato pode estar na superfície ou no interior do mesmo. Um dos pré-tratamentos a ser considerado é a moagem da matéria-prima que possibilita um aumento da área de contato entre o solvente e a matriz sólida; apenas os compostos de interesse devem ser dissolvidos e extraído, isso é conseguido por meio da seletividade do solvente e temperatura de extração. A escolha do solvente deve se basear além da seletividade, na tensão interfacial, viscosidade, estabilidade, reatividade, toxicidade e custos. Deve-se controlar a temperatura de extração a fim de evitar degradação de compostos termo sensíveis. A escolha do solvente é um fator importante no processo de extração sólido líquido, onde raramente é possível selecionar o solvente ideal, mas algumas características devem ser atentamente analisadas para que o processo seja viável (MONGENSEN, 1982).

Não há um sistema de extração com solventes que seja satisfatório para o isolamento de todos os antioxidantes naturais, devido a diversos fatores. O processo de extração de antioxidantes naturais constitui em complexo mecanismo e envolve diversas técnicas, desde a extração convencional e a supercrítica. A extração de substâncias antioxidantes com solventes orgânicos pode ser eficiente para alguns casos, no entanto torna-se agressiva ao ambiente devido aos resíduos gerados durante o uso de substâncias tóxicas. Também exige rigoroso controle de fatores como, a polaridade do solvente utilizado, o tempo e a temperatura de extração, pois podem ocorrer perda ou destruição dos compostos antioxidantes.

A natureza química desses compostos nos alimentos varia do simples ao altamente polarizado, pois existem grande variedade de compostos bioativos nos vegetais (como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos) e diferentes quantidades presentes, além da possibilidade de interação dos compostos antioxidantes com carboidratos, proteínas e outros componentes dos alimentos (SHAHIDI; NACZK, 1995). Os solventes mais empregados para a extração de antioxidantes por razões de higiene e de abundância, são etanol e água, respectivamente. A água

extrai com eficiência os compostos fenólicos com atividade antioxidante devido à sua polaridade. Em estudo realizado com cogumelos “Ling Chih” (*Ganoderma tsugae*), o extrato metanólico apresentou maior atividade antioxidante, porém baixa concentração de compostos fenólicos (24,0 a 35,5 mg/g) (MAU et al., 2005b). Já no extrato aquoso, a concentração de fenólicos obtida foi bem maior (40,86 a 42,34 mg/g) (MAU et al., 2005a).

Não só o solvente, mas o tempo de extração também afeta consideravelmente a recuperação dos polifenóis. O período de extração deve variar entre 1 minuto a 24 horas. No entanto, longos períodos de extração aumentam a possibilidade de oxidação dos compostos fenólicos exigindo que agentes redutores sejam adicionados ao solvente do sistema (SHAHIDI; NACZK, 1995).

Durante o processo de extração, a temperatura pode afetar os compostos bioativos de diferentes maneiras. O conteúdo total de fenólicos diminui com aumento da temperatura (CONDE; GARCÍA-VALLEJO; SIMÓN, 1998) e a estabilidade dos compostos polifenólicos, durante a desidratação e extração, é afetada por degradações químicas e enzimáticas e pela volatilização dos compostos, mas a decomposição térmica tem sido a maior causa da redução do conteúdo de polifenóis. Na decomposição térmica, os fenóis podem reagir com outros componentes e impedir sua extração (MOURE et al., 2001).

As condições de extração como método, agente extrator, temperatura e tempo são fatores importantes a serem considerados na extração de fitoquímicos de plantas. Também é muito importante ressaltar que a polaridade do agente de extração, ou misturas de solventes, desempenham um importante papel na extração (BAQUEIRO-PEÑA; GUERRERO-BELTRÁN, 2017). No presente estudo, o solvente utilizado levou em consideração, além de outros fatores, a ampla forma de consumo pela população, mantendo a forma de preparação do extrato o mais próxima possível da forma de consumo.

Portanto, se fez necessário a análise de diferentes extratos, variando a amostra vegetal entre in natura e seca, utilizando água como solvente, devido a ser sua forma mais natural de consumo, e a variação da temperatura da água como solvente, em temperatura ambiente e em temperatura de infusão em torno de 80°C, que corresponde a sua forma mais usual de consumo pela maioria da população que utiliza a erva cidreira para fins medicinais.

3.5. Antioxidantes

Os radicais livres são bastante reativos e causam diversos danos contínuos e cumulativos à proteína celular, lipídios e DNA, podendo ocasionar uma deterioração progressiva das funções celulares. As atividades dos radicais livres vêm sendo associadas a diversas patologias, quanto intensamente a doenças neurodegenerativas relacionadas à idade, como a doença de Alzheimer, devido a uma alta taxa metabólica e alto consumo de oxigênio pelo cérebro (COBLEY; FIORELLO; BAILEY, 2018).

Em condições fisiológicas, há um equilíbrio entre as quantidades entre agentes pró-oxidantes e as defesas antioxidantes. Porém, em um sistema vivo, se a produção de radicais livres for maior que a capacidade antioxidante, pode ocorrer reação entre as espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, com lipídios, proteínas e o DNA, causando danos estruturais e/ou funcionais nas células, enzimas e material genético (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Diversos fatores ambientais contribuem para a carga total de estresse oxidativo de um indivíduo, inibindo os mecanismos de defesa antioxidante do corpo humano e outros sistemas biológicos e provocando danos que levam a mutações genéticas. Grande variedade de plantas são estudadas devido ao seu teor de antioxidantes em que lhes dão a capacidade de se protegê-las das agressões oxidativas e do estresse fisiológico ao qual são submetidas. Porém, a eficácia dos antioxidantes naturais depende da preservação da sua estabilidade, pois os antioxidantes são muito sensíveis a luz, oxigênio e calor e tem alta taxa de metabolismo na sua forma livre (ANBINDER et al., 2011; CHAN et al., 2010; LÓPEZ CÓRDOBA; DELADINO; MARTINO, 2013; PREEDY, 2014).

Os compostos antioxidantes encontrados em alimentos são uma categoria heterogênea de moléculas (TUBEROSO et al., 2014). Estes compostos podem interagir com os radicais livres e terminar a reação em cadeia antes que danifiquem as moléculas vitais, utilizando variados mecanismos, como: eliminação de espécies que iniciam a peroxidação, quelando íons metálicos, inibindo assim de gerar espécies reativas ou decompor peróxidos, eliminar o oxigênio prevenindo a formação de peróxidos, quebra da reação em cadeia auto-oxidativa, e/ou redução das concentrações localizadas de oxigênio (ASIMI; SAHU; PAL, 2013).

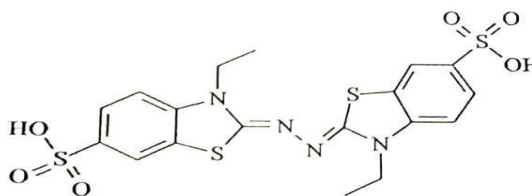
Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de diferentes matrizes alimentares ou orgânicas, sendo muito comum a utilização de plantas e vegetais. Estes abrangem uma série de

substâncias químicas com amplas funções orgânicas e mecanismos de atuação, onde estas substâncias tem apresentado alta atividade antioxidante em sistema *in vitro*. (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996; ZHENG; WANG, 2001).

A fim de determinar a capacidade antioxidante de uma amostra, são utilizados diversos métodos. Os ensaios baseados em transferências de elétrons mensuram a capacidade antioxidante na redução de um oxidante, ocorrendo mudança de cor quando reduzido, isso acontece após a adição do extrato do radical livre que está correlacionado com a concentração de antioxidantes na amostra (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). O grau de mudança de cor está associado com a concentração de antioxidantes da amostra. Os métodos *in vitro* mais citados na literatura científica são ABTS [2,2'-azino-bis(3etilbenzotiazolina-6sulfônico)] e FRAP (poder antioxidante redutor do ferro) (ALVES et al., 2010; HUANG; OU; PRIOR, 2005; NASCIMENTO, 2016).

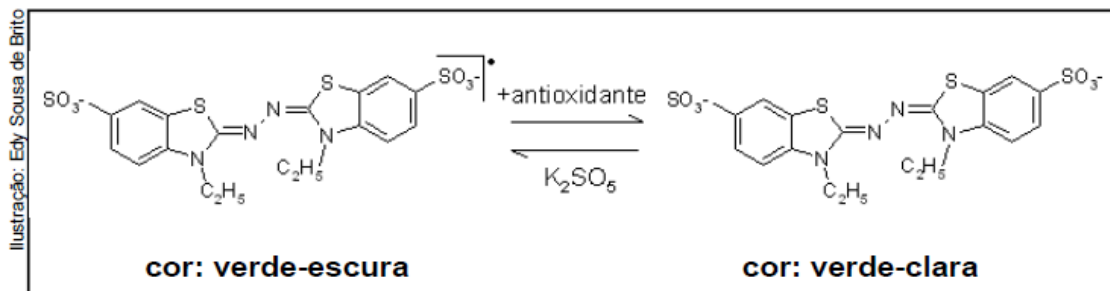
O método ABTS tem como princípio, avaliar a capacidade dos antioxidantes em capturar o cátion ABTS ($\text{ABTS}^{\bullet+}$), no qual a atividade antioxidante da amostra é mensurada através da sua capacidade em estabilizar o cátion ABTS da solução, voltando à forma do composto neutro ABTS (**Figura 4**). A reação de oxidação para que gere a espécie estável $\text{ABTS}^{\bullet+}$ é formada pela oxidação do ABTS com persulfato de potássio (**Figura 5**). Quando uma amostra contendo antioxidantes é adicionada ao cátion radical pré-formado, este é reduzido novamente à ABTS, e ocorre então a descoloração da solução e diminuição da absorbância em 734 nm. Quanto maior a descoloração, maior o potencial antioxidante (BOROSKI et al., 2015; RE et al., 1999).

Figura 4- Estrutura química do ABTS.



Fonte: Boroski et al. (2015).

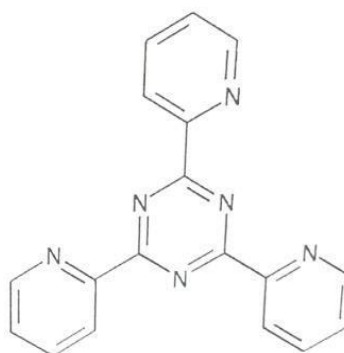
Figura 5- Estabilização do radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.



Fonte: Rufino, 2007.

A técnica para avaliar a capacidade antioxidante que utiliza o complexo férrico de 2,4-tripiridil-1,3,5-triazina ($[\text{Fe}^{3+}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$) (**Figura 6**) para determinação do poder de redução, conhecida como FRAP, estimando a capacidade dos antioxidantes em reduzir o íon férrico (Fe^{3+}) em íon ferroso (Fe^{2+}), em meio ácido (pH 3,6). O método de capacidade redutora do ferro foi criado por Benzie e Strain (1996) e desenvolvido por Pulido et al. (2000), este mensura a capacidade de redução de uma substância por meio da redução do complexo férrico-tripiridil-1,3,5-triazina (Fe^{3+} -TPTZ) ao complexo ferroso (Fe^{2+} -TPTZ) com absorção máxima de 593nm (**Figura 7**). É considerada uma das técnicas mais reprodutíveis e apresenta elevada correlação com os teores de ácido ascórbico e grupos fenólicos. (BOROSKI et al., 2015; RUFINO et al., 2006; SHAHIDI; ZHONG, 2015).

Figura 6- Estrutura do 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina ($[\text{Fe}^{3+}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$).

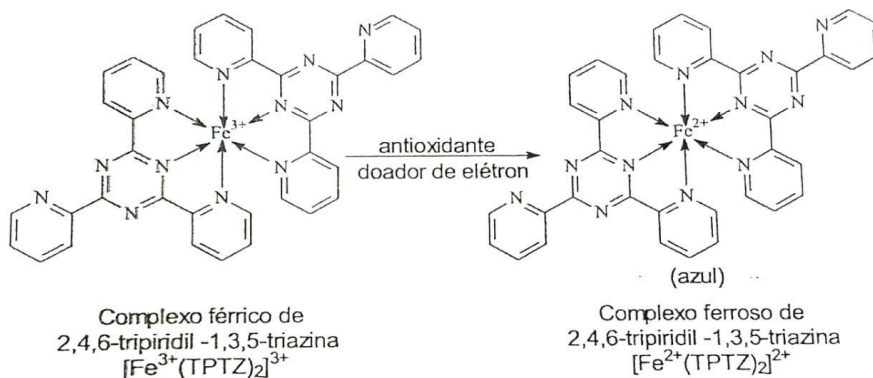


Fonte: Boroski et al. 2015.

A formação do complexo reduzido (**Figura 8**) apresenta coloração azul intensa e o monitoramento da atividade redutora da amostra é medido a 593 nm. Ao contrário dos outros métodos baseados em transferências de elétrons, o ensaio FRAP deve ser realizado sob

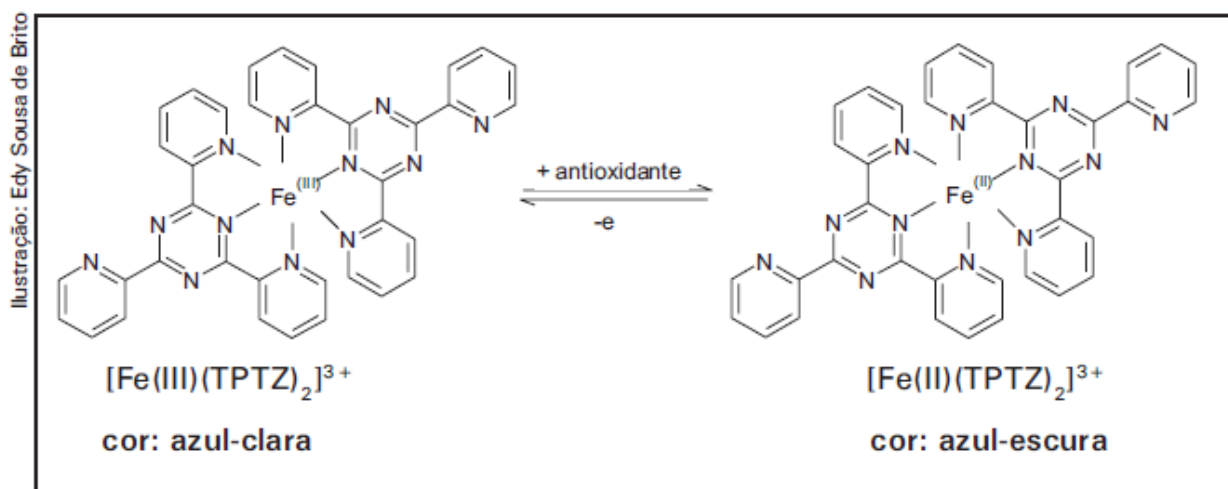
condições com pH baixo, a fim de manter a solubilidade do íon e principalmente o direcionamento na transferência de elétrons (BOROSKI et al., 2015; SHAHIDI; ZHONG, 2015).

Figura 7- Redução do complexo $[\text{Fe}^{3+}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ em $[\text{Fe}^{2+}(\text{TPTZ})_2]^{2+}$.



Fonte: Boroski et al. 2015.

Figura 8- Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe^{3+} .

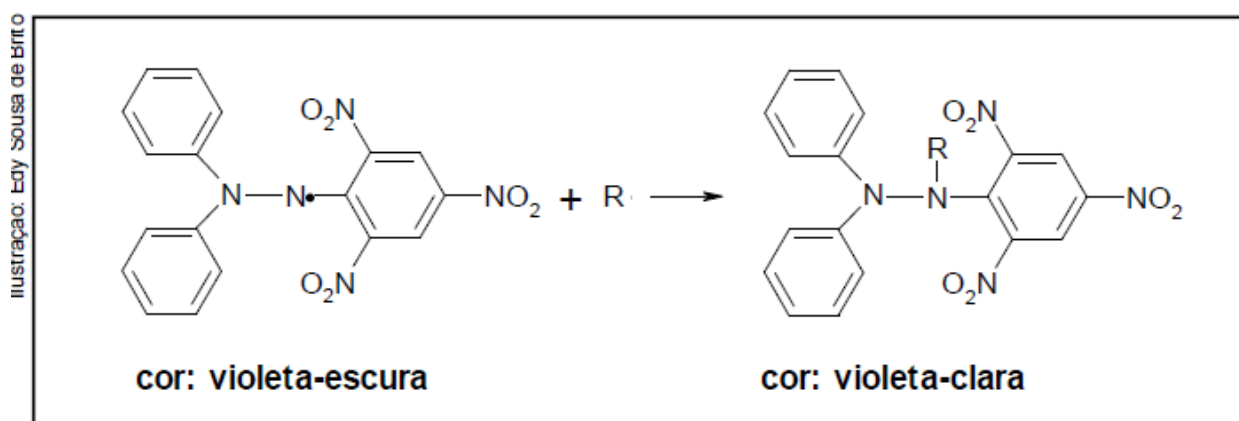


Fonte: Brito, 2006.

O método de varredura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) foi desenvolvido por Blois (1958), adaptado por Brand-Williams et al. (1995). Tem como princípio a transferência de elétrons de um determinado composto antioxidante para um radical livre e baseia-se na captura do radical DPPH por compostos antioxidantes. (**Figura 9**).

Este radical caracteriza-se pela sua estabilidade atribuída ao deslocamento do elétron desemparelhado por toda a molécula. O ato de se deslocar confere a esta molécula coloração violeta, sendo que ao ser reduzido, o composto perde sua tonalidade púrpura. A partir da quantificação desta mudança de coloração, é avaliada a capacidade redutora do antioxidante presente em determinado substrato (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006; GHANI et al., 2017; RUFINO et al., 2007; SHAHIDI; ZHONG, 2015).

Figura 9- Estabilização do radical livre DPPH



Fonte: Brito, 2007.

3.6. Microencapsulação

A microencapsulação é uma técnica bastante útil para melhorar a estabilidade durante o processamento e armazenamento de alimentos como também melhorar a sua biodisponibilidade gastrointestinal (MURALI et al., 2015). Trata-se de um eficiente método de inserir compostos em alimentos. É uma técnica eficaz de preservação, pela qual um composto bioativo é encapsulado com uma fina camada de material protetor (agente encapsulante), proporcionando barreira eficaz contra interações químicas e ambientais, até a liberação desejada (CARMO; FERNANDES; BORGES, 2015).

A microencapsulação é um processo físico-químico que protege o material encapsulado, gerando partículas com pequeno diâmetro que variam de nanômetros a poucos milímetros e são capazes de preservar sua estrutura, mesmo em condições adversas do meio, até alcançar o sítio de ação adequado, onde as microcápsulas são dissolvidas e exercem a função desejada, liberando o material encapsulado. (SIMEONI et al., 2014). Tendo como base o modelo celular, a microencapsulação, no qual a membrana semipermeável protege e

envolve o núcleo do meio externo e, ao mesmo tempo, controla a entrada e saída de substâncias na célula (RÉ, 2006). As substâncias a serem encapsuladas, podem apresentar-se no estado líquido, sólido ou gasoso (FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008). Assim, utiliza-se a microencapsulação como tecnologia alternativa para melhorar o armazenamento e a estabilidade ambiental dos compostos bioativos, como também, afim de mascarar o sabor amargo e adstringência dos polifenóis (BALLESTEROS et al., 2017).

Importante para proteção de compostos bioativos nutracêuticos, a microencapsulação evita a oxidação e hidrólise dos compostos e sua degradação química a fim de garantir a integridade das propriedades funcionais dos produtos (PASIN; AZÓN; GARRIGA, 2012). A microencapsulação é capaz de promover a liberação controlada do material encapsulado, usando diferentes mecanismos para que ocorra a liberação, como mudança de pH, temperatura, tempo, estresse mecânico, atividade enzimática, força osmótica, fermentação bacteriana, entre outras (COOK et al., 2012).

O processo de microencapsulação, é uma tecnologia nova, onde as substâncias ativas são revestidas por cápsulas extremamente pequenas, vem sendo empregada na indústria de cosméticos, farmacêutica, agrotóxicos e alimentícia e, nesta, é utilizada para manter a integridade e função dos aromas, ácidos, óleos, vitaminas, microorganismos, entre outros. O êxito nessa tecnologia deve-se à correta escolha do material encapsulante, da forma de liberação do núcleo e do método de encapsulação (SILVA et al., 2014).

A aplicação da microencapsulação, ocorre em várias áreas, como por exemplo na área alimentícia, onde apresenta vários objetivos (KUANG; OLIVEIRA; CREAM, 2010; NEDOVIC et al., 2011), tais como:

- a) Proteger as substâncias encapsuladas dos agentes atmosféricos (luz, humidade, calor e oxigénio);
- b) Mascarar as características organoléticas desagradáveis (sabores, odores e cor) de alguns materiais;
- c) Separar os componentes reativos ou incompatíveis;
- d) Controlar a biodisponibilidade;
- e) Melhorar a solubilidade do material encapsulado e poder incorporar em outros sistemas;
- f) Aumentar o tempo de armazenamento;

- g) Estabilizar a substância a encapsular e controlar a liberação, evitando as reações de degradação decorrentes das condições adversas ao longo do trato gastrointestinal (pH e enzimas);
- h) Redução da velocidade de evaporação de substâncias voláteis;
- i) Facilitar a manipulação de substâncias, evitando perdas durante o processo;
- j) Reduzir efeitos adversos provocados pela presença de outras substâncias na formulação, a exemplo de substâncias que possam reagir com os princípios ativos de interesse;
- k) Diminuir a toxicidade do composto bioativo.

Diferentes métodos (químicos, físicos ou físico-químicos) são realizados no processo de microencapsulação, a diferença está no envolvimento do material que será encapsulado pelo agente encapsulante, sendo assim, devem ser consideradas as propriedades físico-químicas do material a encapsular e do agente encapsulante, a aplicação e finalidade (BANSODE et al., 2010). De acordo com Tyagi et al, (2011), as técnicas de microencapsulação são classificadas em:

- a) Métodos físicos: como secagem por atomização ou spray drying, liofilização, precipitação com fluido supercrítico e evaporação do solvente;
- b) Métodos físico-químicos: incluindo coacervação simples ou complexa, lipossomas e gelificação iônica;
- c) Métodos químicos: como polimerização interfacial e complexação de inclusão molecular

A escolha do método de microencapsulação depende da aplicação final das microcápsulas, do tamanho desejado, do mecanismo de liberação e das propriedades físico-químicas do material ativo e do agente encapsulante (ASSUNÇÃO et al., 2014; COOK et al., 2012).

A utilização de compostos microencapsulados consiste em uma estratégia promissora e vem sendo estudada visando a ampliação de sua utilização em diferentes setores, dentre eles a indústria alimentícia (TRIFKOVIĆ; TADIĆ; BUGARSKI, 2016).

3.7. Microencapsulação por gelificação iônica

A gelificação iônica é uma técnica de microencapsulação que ocorre por meio de uma reação entre uma solução polimérica contendo os nutrientes e uma solução iônica em

concentrações adequadas (CORREA, 2003). O mecanismo de gelificação ocorre por difusão dos íons na solução hidrocolóide, pois as gotas quando em contato direto com a solução iônica ocorre a formação instantânea de estruturas esféricas de gel, contendo o material ativo disperso na matriz do agente gelificante, e posteriormente as partículas são retiradas, lavadas com água destilada e secas (BUREY et al., 2008; RACOVITĂ et al., 2009; SMRDEL et al., 2008).

No processo de microencapsulação por gelificação iônica, são geralmente utilizados como encapsulantes, alginato, pectina, goma gelana, carragena, ou quitosana, dissolvidos em água e na presença de íons multivalentes, formam um gel insolúvel. Os mecanismos de gelificação iônica para a formação de partículas são realizados por dois processos: a gelificação interna e a externa (ARANHA, 2015). Na gelificação iônica interna, a produção de partículas ocorre por adição de sais de cálcio, diretamente na solução polimérica que contém o material a ser encapsulado. Ocorre redução do pH, com adição de uma solução ácida na emulsão de água em óleo, a fim de liberar os íons cálcio, e permitir a complexação do cálcio com os grupos carboxílicos. A obtenção de partículas utilizando gelificação iônica externa, baseia-se no gotejamento de uma solução polimérica com o material ativo que será encapsulado, em uma solução iônica sob agitação constante, podendo-se obter razoáveis níveis do material encapsulado e partículas de diferentes tamanhos e formas (IMESON, 2009; SCHOUBBEN et al., 2010; SMRDEL et al., 2008).

O processo de produção de microcápsulas por gelificação iônica é uma técnica emergente, simples e de baixo custo, na qual se pode microencapsular um alimento dentro de uma membrana de gel formada pela reação de um hidrocolóide com uma solução iônica, que resulta na obtenção de um produto na forma de esfera, com sabor e textura diferenciados (ALMEIDA et al., 2014; CORREA, 2003).

A gelificação iônica ou ionotrópica é considerada uma técnica simples, de baixo custo, não necessita de equipamento especializado, altas temperaturas, condições extremas de pH e uso de solventes orgânicos. Possui liberação controlada do núcleo por difusão, através de estímulos externos que modificam a estrutura do gel como desgaste mecânico, mudanças de pH, enzimático e forças osmóticas. A gelificação iônica permite encapsular substâncias hidrofílicas ou hidrofóbicas (MCCLEMENTS, 2005) e possui o diferencial para a liberação do agente ativo, pois as partículas produzidas com alginato, são porosas, porém isto, pode ser reduzido com a adição de outro polímero (polissacarídeos ou proteína) ou outra técnica para o

recobrimento (KUROZAWA; HUBINGER, 2017; SMIDSRØD; SKJÅK-BRÅK, 1990; TELLO et al., 2015).

A microencapsulação por gelificação iônica tem sido bastante difundida na área de alimentos, um estudo por exemplo, elaborou um microencapsulado de cúrcuma longa (açafrão) pelo método de gelificação iônica, visando agregar valor ao vinagre de álcool, onde a partir do pó da cúrcuma, foi feito o processo de gelificação iônica, obtendo-se as microcápsulas e, realizando as análises físico-químicas no pó, na microcápsula e no vinagre, obtendo-se resultados semelhantes quando comparado o pó e a microcápsula, e a caracterização do vinagre condimentado permaneceu dentro dos padrões estabelecidos na legislação, obtendo-se um produto final com bom aspecto visual o qual, agrega maior valor sensorial, além da adição da cúrcuma aumentar as propriedades funcionais (ANDRADE et al., 2020).

A fim de proteger a degradação dos compostos bioativos evitando a oxidação, foi formulado microcápsulas de pimenta de cheiro verde pela técnica de gelificação iônica, com espinafre e acondicionadas em meio ácido, avaliando a estabilidade dos compostos bioativos e o efeito da encapsulação durante 1 mês de armazenamento e conclui-se que esta apresenta consideráveis teores de compostos bioativos, alcaloides (capsaicina) e boa estabilidade desses compostos durante o armazenamento em meio ácido (SANTOS et al., 2020).

Foi realizada a formulação e caracterização de cápsulas de alginato contendo o extrato aquoso bruto de folhas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (estévia) visando futuras aplicações como ingredientes funcionais. As cápsulas foram elaboradas a partir do processo de gelificação iônica utilizando o alginato de sódio como agente encapsulante e o cloreto de cálcio para reticulação, considerando o efeito protetor eficiente do alginato na estabilidade de compostos fenólicos presentes em extratos de estévia, e a alta eficiência de encapsulação obtida mostrou que ao empregar o extrato de estévia na solução reticulante, as perdas de compostos por difusão foram eficientemente evitadas. Estes resultados contribuirão na compreensão das mudanças químicas e estruturais, bem como das interações entre o material encapsulante e os ingredientes ativos funcionais durante processos de encapsulamento, que busquem o desenvolvimento de sistemas carreadores efetivos para ingredientes funcionais (ARRIOLA, 2017).

Outro estudo avaliou a estabilidade das cápsulas de suco de laranja, obtidas por gelificação iônica, utilizando pectina e alginato de sódio como agentes encapsulantes. O método de gelificação iônica usando o encapsulamento ofereceu uma alternativa para prolongar a vida útil do suco, e o projeto de novos produtos elaborados a partir deste cítrico (FRANCISCO

CASTAÑÓN-RODRÍGUEZ; GUADALUPE SOTO-GÓMEZ; MARGARITA URESTI-MARÍN, 2020).

3.8. Agentes encapsulantes

Os principais fatores que influenciam na estabilidade do composto encapsulado é o tipo de agente encapsulante utilizado na microencapsulação. Os materiais de parede ou agentes encapsulantes podem ser utilizados sozinhos ou combinado, e a composição ideal varia em cada processo (ALVARENGA BOTREL et al., 2012). Os agentes encapsulantes, dependem de vários fatores e podem ser selecionados a partir de uma ampla variedade de polímeros naturais e sintéticos, a depender do material do núcleo encapsulado, propriedades funcionais das partículas como: tamanho, permeabilidade, polaridade, solubilidade, mecanismo de liberação satisfatório, serem atóxicos, não possuírem reatividade com o material a ser encapsulado e características físico-químicas desejadas para o produto final (ALVARENGA BOTREL et al., 2012; JOYE; MCCLEMENTS, 2014).

Vários polissacarídeos e proteínas são utilizados na fabricação de microcápsulas na área alimentícia, sendo as matrizes encapsulantes mais empregadas: alginato de cálcio, carragena, amido, amido resistente, quitosana, gelatina e proteínas (BURGAIN et al., 2011; COOK et al., 2012). Devido à capacidade de retenção de água, apresentar propriedades gelificantes e estabilizantes e capacidade de modificar a viscosidade dos sistemas aquosos onde são incorporados, o alginato é um polissacarídeo usado amplamente na indústria alimentar, tendo ainda aplicações dos alginatos na área farmacêutica e na indústria têxtil, havendo um grande potencial para o uso em aplicações biotecnológicas (SANTOS, 2012). **Na tabela 1**, são referenciados alguns exemplos de agentes encapsulantes de acordo com a sua origem.

Tabela 1 - Agentes encapsulantes usados para microencapsulação de acordo com sua origem

Tipos de agentes encapsulantes	Exemplos
Naturais	Gelatina, goma ágar-ágar, alginato de sódio, dextrano, quitosano, caseinato, sacarose e cera
Semissintéticos	Acetato de celulose, nitrato de celulose, etilcelulose, hidroxipropilcelulose, metilcelulose, carboximetilcelulose de sódio, álcool miristílico, gliceril mono ou dipalmitato, mono e triestearato de glicerol.
Sintéticos	Polímeros do acrílico e co-plímeros

Fonte : (ANSON, 2005)

Os diversos tipos de polissacarídeos podem ser obtidos de sementes de plantas como o goma guar e goma alfarroba, extraídos das algas como o ágar, carragenatos e alginatos, extraídos das plantas como a pectinas, obtidos por fermentação bacteriana como goma xantana e goma gelano, ou ainda, obtidos por modificação química das macromoléculas naturais, a exemplo da celulose, amido e seus derivados (SOUZA, 2012).

A microencapsulação resulta em um produto final que protege os compostos bioativos nutracêuticos dos alimentos encapsulados de fatores externos, como umidade e calor, e melhora a estabilidade e biodisponibilidade desses compostos. A microencapsulação com alginatos apresenta os benefícios da ingestão diária de alginatos como fibra para redução da glicemia e perfil lipídico no sangue, bem como sua capacidade de aumentar o tempo de validade dos produtos. Sendo assim, a microencapsulação pode ser utilizada para a preservação dos alimentos durante o processamento e armazenamento (PASIN; AZÓN; GARRIGA, 2012).

O alginato de sódio é um polímero aniônico de ocorrência natural, obtido a partir de algas marrons, tais como a *Macrocystis pyrifera*, *Lessoniaceae* (alga marinha gigante,) ou da alga marinha *Laminaria digitata*, *Laminariaceae* ou de algas marinhas *Laminaria saccharina* (SIMPSON et al., 2003), é um dos polímeros mais empregados como material encapsulante, pois forma uma matriz muito versátil, biocompatível e não tóxica para a proteção de componentes ativos, sensíveis ao calor, pH, oxigênio, entre outros fatores os quais os alimentos

são submetidos durante o processamento e armazenamento (PASIN; AZÓN; GARRIGA, 2012). Foram observadas a utilização de alginato, para cicatrização de feridas, liberação de drogas, cultura e engenharia de tecidos, devido às suas características como biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade, estabilidade térmica, abundância na fonte, custo relativamente baixo, condições de gelificação (LEE; MOONEY, 2012) e ainda mascarar o sabor indesejável de compostos (RATHOD; KAIRAM, 2018).

O alginato, devido às suas propriedades não tóxicas, biodegradáveis e biocompatíveis, como também apresentar propriedades gelificantes superiores sob condições seguras e suaves, é o polímero mais comumente utilizado (LEONG; TAN; NYAM, 2016). A utilização de alginato é mais comumente realizada pelo processo de encapsulamento por extrusão, onde a solução de alginato contendo composto ativo é retirada com uma seringa e gotejada através de uma agulha, em uma solução de gelificação composta principalmente de íons de cálcio (WICHCHUKIT et al., 2013).

A gelificação iônica com alginato é uma maneira simples e rápida de obter sistemas voltados para fins de encapsulamento, perdas e alta difusão de compostos ativos através da rede de alginato poroso que limita sua aplicação como veículo de liberação controlada (LÓPEZ CÓRDOBA; DELADINO; MARTINO, 2013). A gelificação ocorre pelo mecanismo de troca iônica, no qual o sódio do alginato é trocado com o cálcio presente no meio gelificante através da ligação química entre os dois grupos carboxila, presentes em resíduos de ácido poliaulurômico adjacentes. Os íons de cálcio mantêm as cadeias de alginato unidas por interações iônicas após a formação de pontes de hidrogênio entre as cadeias, produzindo gel com estrutura de rede tridimensional (SANTOS, 2012).

Esferas de hidrogel de alginato de cálcio foram usadas para encapsular extrato de erva-cidreira, onde foram determinadas as interações dos compostos antioxidantes do extrato, com materiais de encapsulamento e sua estabilidade, como também, foram avaliados o teor total de polifenóis e atividade antioxidante de erva cidreira antes e após o encapsulamento. E o estudo mostrou que a atividade antioxidante do extrato de erva-cidreira não se alterou após o encapsulamento, e os espectros mostraram a falta de interação entre o extrato e os polímeros aplicados, indicando assim a adequação de alginato para encapsulamento de antioxidantes naturais. Foi determinada como condição ótima para eficiência de encapsulamento, as concentrações de 1,84% de solução de alginato, 0,4% de extrato de erva-cidreira, e 0,2% de cloretos. (NAJAFI-SOULARI; SHEKARCHIZADEH; KADIVAR, 2016).

No estudo de Córdoba, Deladino e Martino (2013), foram encapsulados extratos de erva mate, em matriz de alginato, e adicionando amido de milho como material de enchimento a fim de melhorar as propriedades estruturais, e utilizou-se o método de gelificação iônica para analisar o efeito da gelificação sobre os valores de atividade antioxidante e pode-se concluir que não houve interações entre os polifenóis da erva-mate e a matriz encapsulante, mostrando que o método de encapsulamento utilizado não alterou as atividades antioxidantes.

Passos (2017), por meio da encapsulação de polpa de tomate, observou que a gelificação iônica, além de preservar os compostos bioativos, é uma estratégia interessante para o enriquecimento de outros produtos (azeite) através da migração desses compostos.

3.9. Armazenamento após o processo de microencapsulação por gelificação iônica

Após o processo de microencapsulação é muito importante o correto armazenamento em embalagens que preservem as características do produto. A embalagem desempenha um papel fundamental na indústria alimentícia devido à suas múltiplas funções. Além de conter o produto, a embalagem é muito importante na sua conservação, garantindo qualidade e segurança, atuando como barreira contra fatores responsáveis pela deterioração química, física e microbiológica (JORGE, 2013).

Dentre várias embalagens, as constituídas de vidro são inertes, higiênica, não interferem no sabor dos alimentos e bebidas ou na composição de perfumes e medicamentos, possui um preço estável, além de deixar ser mais sofisticada, é praticamente impermeável ao oxigênio, resistente, completamente reciclável, permite a visualização do seu interior (CANÇADO, 2003; PRADO, 2015; SANTOS; AGNELLI; MANRICH, 2004), a retornabilidade, ou seja, seu uso para o mesmo fim, por várias vezes, a reutilização ou uso da embalagem de formas distintas, com total reciclabilidade, sem perda de volume ou de propriedades do material e a impermeabilidade. Além disso, é asséptico, prática, versátil e proporciona alta inércia química, ou seja, as reações químicas levam muito tempo para acontecer, o que garante maior preservação das características originais do conteúdo embalado, sendo um tipo de embalagem adequada para armazenar qualquer produto por toda sua vida útil. Suas desvantagens são o peso e a fragilidade no transporte e manuseio, sendo necessário um cuidado redobrado (JORGE, 2013).

3.10. Análise FTIR (espectroscopia na região do infravermelho por transformada nano-Fourie)

FTIR é uma das técnicas mais empregadas para a identificação de materiais poliméricos e se baseia no fato de que os diferentes grupos funcionais que compõem as moléculas, absorvem a radiação na região do infravermelho do espectro eletromagnético em comprimentos de onda característicos. É considerada uma das mais importantes técnicas experimentais para a caracterização de polímeros, em termos de identificação e/ou determinação de características estruturais, principalmente no que se refere a grupos funcionais e de ligações presentes na amostra. Além das informações qualitativas, a análise por FTIR permite a determinação semi-quantitativa de componentes de uma amostra ou mistura, esteja ela no estado sólido, líquido, gasoso ou em solução (não-aquosa). Dependendo da natureza da amostra a ser analisada pode ser uma técnica fácil e rápida que pode prover informações em menos de cinco minutos, sendo possível também analisar amostras pequenas ou em pequenas quantidades (HORI; SUGIYAMA, 2003; MCCANN et al., 1992, 1997).

A fim de caracterizar os compostos presentes nas folhas da erva cidreira foram realizadas análises de espectroscopia na região do infravermelho por transformada nano-Fourier (FTIR), pois as células, tecidos e órgãos das plantas são compostos de várias biomoléculas dispostas como unidades estruturalmente diversas, apresentando heterogeneidade em níveis microscópicos, sendo assim de suma relevância o conhecimento molecular sobre os constituintes vegetais. As técnicas de espectroscopia FTIR, que não utilizam reagentes onerosos, são consideradas plataformas fundamentais para diagnósticos “point of care” rápidos, precisos e de baixo custo (BAKER et al., 2014).

A técnica de FTIR apresenta transições vibracionais entre os níveis de energia das moléculas. A condição para que a radiação infravermelha seja detectada por esta técnica é que haja variação do momento de dipolo elétrico da molécula como consequência de seu movimento vibracional ou rotacional. Somente nessas circunstâncias, o campo elétrico alternante da radiação incidente interage com a molécula, originando os espectros. A região espectral do infravermelho compreende radiação com números de onda no intervalo de aproximadamente 12.800 a 10 cm^{-1} ou comprimentos de onda de 0,78 a 1.000 μm . Por conveniência, divide-se o espectro infravermelho em infravermelho próximo, médio e distante (ALCANTARA JR, 2002; FEMENIA et al., 1998; HORI; SUGIYAMA, 2003; MCCANN et al., 1992, 1997; SKOOG et al., 2002).

As informações extraídas do espectro FTIR pode fornecer informações sobre a composição da parede celular, como polissacarídeos pécicos hemiceluloses e pode distinguir as mudanças estruturais e composicionais (FEMENIA et al., 1998). O novo desenvolvimento de espectroscopia no infravermelho por transformada nano-Fourier combinado com a microscopia óptica de campo próximo de varredura do tipo de espalhamento, quebra a limitação de difração, que abre a nova área de análises dos componentes. (ALCANTARA JR, 2002; FEMENIA et al., 1998; KUMAR et al., 2016).

A espectroscopia FTIR permite a construção de imagens realizadas a partir de espectros de impressões digitais por meio da passagem de dados espectrais, podendo refletir um estado de saúde subjacente da amostra em análise (BAKER et al., 2014).

Avaliação de grandes conjuntos de espectros de FTIR é feito preferencialmente por análise multivariada. Nos últimos anos, devido à melhoria da instrumentação e computação, quimiometria, FTIR combinado e análise estatística, tornou-se uma ferramenta poderosa para a análise bioquímica das paredes celulares das plantas, onde o FTIR provou ser útil no estudo de alterações composicionais nas paredes celulares das plantas durante crescimento e desenvolvimento. As técnicas de imagem por infravermelho têm vantagens sobre métodos convencionais para investigar estruturas heterogêneas de plantas, fornecendo análises qualitativas com distribuição espacial dos componentes(KUMAR et al., 2016).

3.11. Análise de compostos voláteis

Diversas substâncias químicas são responsáveis pela constituição do aroma de um alimento, dentre elas, ésteres, cetonas, aldeídos, pirazinas, álcoois que podem, sozinhos, lembrar a qualidade do aroma, ou atuarem de forma conjunta para representar o aroma total do alimento (LEMOS, 2014)

A composição química dos compostos voláteis de uma planta variam significativamente devido à vários fatores que podem ocasionar diferenças nos seus componentes, como a genética da planta, seu estágio de desenvolvimento, época e horário da colheita, fontes geográficas, o modo de secagem do material vegetal e fatores ambientais, como umidade, água, e solo. Essa grande variação decorrente de estímulos ambientais, pode estar relacionada com a rota metabólica e ocasionar a biossíntese de diferentes compostos. Geralmente, esses fatores

ambientais não atuam isoladamente, apresentando correlações entre si e atuando de maneira conjunta no metabolismo da planta (MORAIS, 2009).

O sabor característico do alimento é dado por compostos voláteis que impressionam os receptores olfativos através das narinas, antes da ingestão, e através da cavidade retro-nasal, que liga a boca à cavidade olfativa, durante a mastigação e deglutição (PENHA, 2014).

O aroma é uma das características que contribui para aceitação de alimentos e bebidas pelos consumidores. Essa percepção depende de dois tipos de compostos voláteis: os compostos de impactos e os contribuintes, onde os primeiros caracterizam um alimento, enquanto os segundos são os demais componentes, os quais conferem o sabor completo do produto. A satisfação do chá pelos consumidores é afetada por sua qualidade, na qual o aroma é um indicador-chave da qualidade (ALASALVAR, KRAUJALYTĖ e PELVAN, 2016)

Devido à complexidade da composição dos constituintes do aroma de um alimento, a pesquisa do sabor torna-se bastante complexa, exigindo instrumentação moderna e sofisticada. A pesquisa de compostos voláteis tem início com uma etapa de isolamento e concentração da fração volátil através de um método de extração, seguida por uma análise cromatográfica, onde ocorre separação, quantificação e identificação dos analitos, e a última etapa consiste no processamento dos dados (FERRÃO et al, 2012).

É bastante utilizada a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) é uma combinação de duas poderosas ferramentas analíticas: a cromatografia gasosa para uma eficiente separação em fase gasosa dos componentes de uma mistura complexa e a espectrometria de massas para a confirmação da identidade desses componentes bem como para a identificação de compostos desconhecidos (SILVA, 2010).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local de desenvolvimento da pesquisa

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de *Flavor* - LAF e nos laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), no laboratório de bromatologia do departamento de nutrição (DNUT) da Universidade Federal de Sergipe (UFS).

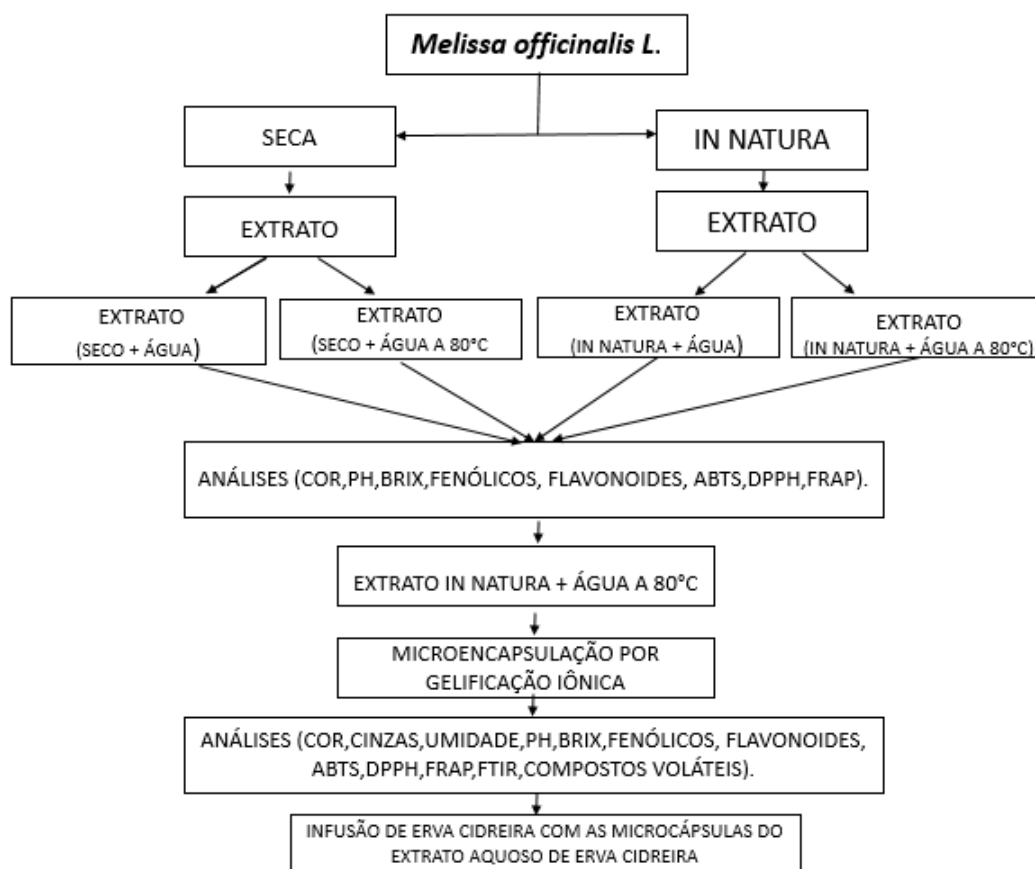
4.2. Matéria-prima

A matéria-prima utilizada para a fabricação das microcápsulas, foram amostras de erva cidreira in natura, *Melissa officinalis* L., coletadas em um bairro do município de Aracaju-SE. As folhas de erva cidreira, foram coletadas in loco (10°45'29" latitude sul e 37°18'45" longitude oeste, altitude de 193,0 metros), depois foram transportadas para o laboratório de frutas e vegetais da Universidade Federal de Sergipe, onde foram submetidas aos processos de desfolhamento, sanitização e trituração. Inicialmente foi realizada a retirada das folhas dos galhos, descartando as folhas danificadas e as flores. Efetuou-se a lavagem das folhas em água corrente para retirada de sujidades e em seguida colocou imersa em solução sanitizante StarClor Start por 10 minutos como recomendando no rótulo do produto. Utilizou-se o cálculo de 6g de amostra para 200 ppm de sanitizante. Após a sanitização, as folhas de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) foram colocadas em recipiente para secagem natural. A amostra total foi dividida para 2 processamentos:

- Folhas in natura submetidas a trituração em triturador portátil marca Tecnal.
- Folhas in natura submetidas a secagem: as folhas foram secas em secador pardal (Temperatura constante de 50°C) obtendo-se a curva de secagem até o peso constante, e em seguida triturada.

Após o processamento inicial, separando em amostra in natura e amostra seca, realizou-se o preparo dos extratos para que fossem realizadas as análises e definição do melhor extrato para efetuar a microencapsulação, como mostra a **Figura 10**.

Figura 10- Fluxograma das análises e procedimentos realizados a partir da obtenção da matéria prima.



4.3. Preparo dos extratos

No presente estudo, o solvente utilizado para a preparação dos extratos levou em consideração, além de outros fatores, a ampla forma de consumo pela população, mantendo a forma de preparação do extrato o mais próxima possível da forma de consumo.

Portanto, se fez necessário a análise de diferentes extratos, variando a amostra vegetal entre in natura e seca, utilizando água como solvente, devido a ser sua forma mais natural de consumo, e a variação da temperatura da água como solvente, em temperatura ambiente e em temperatura de infusão em torno de 80°C, que corresponde a sua forma mais usual de consumo pela maioria da população que utiliza a erva cidreira para fins medicinais.

Inicialmente foi preparado quatro tipos de extratos de erva cidreira (*Melissa officinalis L.*), para que fosse definido o melhor tipo a ser microencapsulado segundo os resultados das

análises de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, e atividade antioxidante pelos métodos ABTS, FRAP e DPPH.

As plantas medicinais são sensíveis ao processo de secagem e as temperaturas a que são submetidas podem causar alterações na quantidade e qualidade dos princípios ativos, porém no geral, temperaturas entre 40°C e 60°C são as mais indicadas independentes do método de secagem. Definiu-se assim, a temperatura constante de 50°C para secagem das folhas de erva cidreira, a fim de realizar a secagem e garantir a integridade dos seus princípios ativos (MELO; RADÜNZ; MELO, 2004).

Para o preparo da amostra seca, foi realizada a secagem das folhas da amostra vegetal, em secador pardal com circulação de ar e temperatura monitorada na faixa de 50°C, até obtenção do peso constante. No presente estudo, o solvente utilizado para a preparação dos extratos levou em consideração, além de outros fatores, a ampla forma de consumo pela população, mantendo a forma de preparação do extrato o mais próxima possível da forma de consumo.

Portanto, se fez necessário a análise de diferentes extratos, variando a amostra vegetal entre in natura e seca, utilizando água como solvente, devido a ser sua forma mais natural de consumo, e a variação da temperatura da água como solvente, em temperatura ambiente e em temperatura de infusão em torno de 80°C, que corresponde a sua forma mais usual de consumo pela maioria da população que utiliza a erva cidreira para fins medicinais.

Inicialmente foi preparado quatro tipos de extratos de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.), segundo as recomendações da Farmacopeia Brasileira utilizou-se 4g de amostra vegetal para 150 mL de água filtrada, realizando-se a infusão a 80°C (para os extratos com água quente), para que fosse definido o melhor tipo a ser microencapsulado segundo os resultados das análises de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, e atividade antioxidante pelos métodos ABTS, FRAP e DPPH. Foram preparados quatro tipos de extratos para posteriores análises e definição do melhor tipo de extrato para ser microencapsulado:

- Amostra vegetal in natura + água
- Amostra vegetal in natura + água quente (infusão à 80°C)
- Amostra vegetal seca + água
- Amostra vegetal seca + água quente (infusão à 80°C)

As plantas medicinais são sensíveis ao processo de secagem e as temperaturas a que são submetidas podem causar alterações na quantidade e qualidade dos princípios ativos, porém no geral, temperaturas entre 40°C e 60°C são as mais indicadas independentes do método de secagem. Definiu-se assim, a temperatura constante de 50°C para secagem das folhas de erva cidreira, a fim de realizar a secagem e garantir a integridade dos seus princípios ativos (Melo et al., 2004).

Para o preparo da amostra seca, foi realizada a secagem das folhas da amostra vegetal, em secador pardal com circulação de ar e temperatura monitorada na faixa de 50°C, até obtenção do peso constante. Após o preparo dos extratos, foram realizadas as análises de compostos fenólicos, flavonóides e antioxidantes para definição do melhor tipo de extrato para posterior realização do processo de microencapsulação

4.4. Análise de Fenólicos totais

Adotou-se a metodologia proposta por Swain e Hills (1959), com adaptações para microplaca. Pipetou-se 12,5 µL do extrato, adicionou-se 200 µL de água destilada e 12,5 µL do reagente *Folin Ciocalteau*. Aguardou-se 3 minutos e foi adicionado 25 µL de solução saturada de carbonato de sódio (40%). A placa foi mantida no escuro durante 1 hora e realizou-se a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 720nm. Para expressar os resultados, construiu-se uma curva-padrão de ácido gálico nas concentrações de 200, 150, 100, 75, 50, 25 e 12,5 µL ($R^2 = 0,9956$).

4.5. Análise de Flavonóides totais

Foi adotada a metodologia proposta por Woisky, Salatino (1998) com algumas modificações. Foram pipetadas alíquotas de 25 µL do extrato, adicionou-se 100 µL de água destilada, 7,5 µL de água destilada e aguardou-se 6 minutos. Após esse período, pipetou-se 7,5 µL de $AlCl_3$ (10%) e esperou-se 6 minutos. Por fim, adicionou-se 100 µL de NaOH (4%) e 10 µL de água destilada. Após 15 minutos realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 510nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes à catequina, utilizando uma curva padrão ($R^2=0,9715$).

4.6. Análise da capacidade antioxidante pelo método ABTS - captura do radical ABTS+ (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico))

Foi adotada metodologia proposta por Re et al. (1999), com algumas adaptações. O ABTS foi ativado 16 horas antes das análises adicionando-se persulfato de potássio e solução estoque de ABTS. No dia da análise o radical foi estabilizado a 720nm, sendo diluído em etanol. Em ambiente escuro foi transferida uma alíquota de 30 µL de cada concentração do extrato em placa, adicionando em seguida 300 µL do radical ABTS•± (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)). Após 6 minutos realizou-se leitura em espectrofotômetro a 734nm. Os resultados serão expressos em uM de equivalente ao Trolox/g de amostra, utilizando-se uma curva-padrão de trolox ($R^2=$).

4.7. Análise da capacidade antioxidante pelo método FRAP - poder redutor do Ferro (FRAP)

Adotou-se a metodologia proposta por Oyaizu (1986) com algumas modificações para microplaca. Tomou-se 9µl de cada concentração do extrato, adicionou-se 27µl de água destilada e 270µl do reagente FRAP (Tampão acetato 0,3M, TPTZ e cloreto férrico na proporção de 10:1:1). A microplaca foi mantida à temperatura de 37°C em estufa durante 30 minutos. Após esse período, realizou-se a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595nm. Para o cálculo dos resultados utilizou-se uma curva-padrão de Trolox nas concentrações de 2000µM ($R^2=0,9998$).

4.8. Análise da capacidade antioxidante pelo método DPPH – (Captura do radical livre - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

Seguiu-se a metodologia Brand-Williams (1995) com modificações para microplaca. Inicialmente foi preparada uma solução estoque concentrada de DPPH e no momento da análise procedeu-se à diluição até atingir uma absorbância de 0,700 no comprimento de onda de 515nm. Em ambiente escuro, pipetou-se 50µl de cada concentração do extrato e adicionou-se 150µl do radical DPPH. Após 30 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 515nm. Os resultados foram expressos em percentual de varredura a partir da substituição do y por 50 na **Equação 1** da curva de ação do extrato.

Equação 1 – Equação para o cálculo do % de varredura do radical DPPH.

$$\% \text{ de varredura} = (\text{abs do branco} - \text{abs da amostra}) / \text{abs branco} \times 100 \quad \text{(Equação 1)}$$

4.9. Obtenção das Microcápsulas de erva cidreira

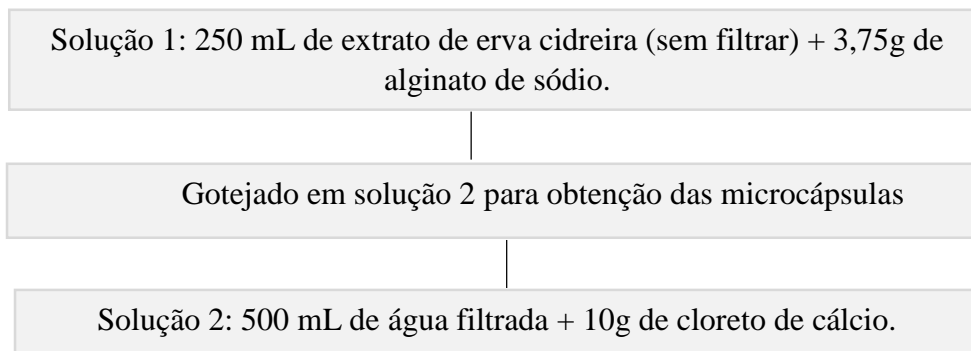
As microcápsulas de erva cidreira foram obtidas através da técnica de microencapsulação por gelificação iônica, onde foram realizadas o preparo do extrato, e as soluções para o processo de microencapsulação (**Figura 11 e 12**).

Preparo do extrato: utilizou-se 4g de amostra vegetal de erva cidreira (*Melissa officinalis*) in natura, triturada e 150mL de água filtrada aquecida à 80°C, sem realizar a filtração, deixando assim, pequenas partículas da erva cidreira no extrato para melhor aparência das microcápsulas

Solução 1: Foi preparada uma solução composta de alginato de sódio, na concentração de 1,5%, e misturou-se com o extrato de erva cidreira. Para preparação desta solução foi utilizado um homogeneizador Marca *Philips*, Modelo RI1341, com potência de 300 Watts.

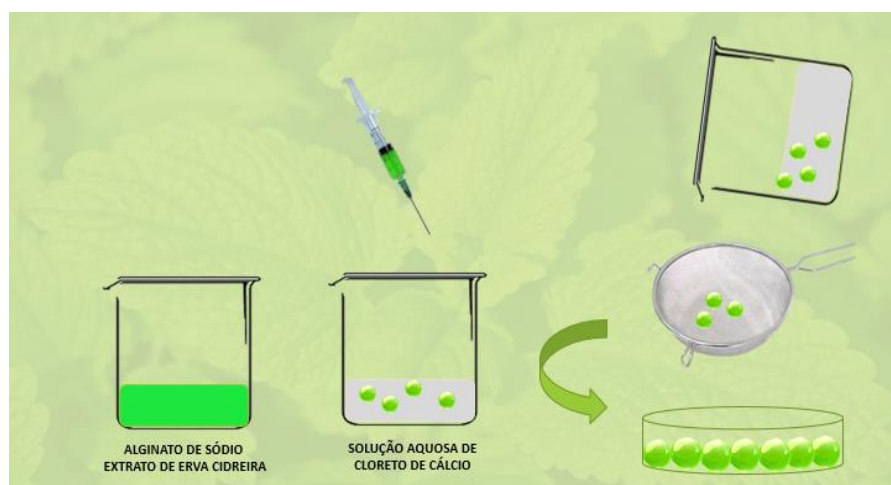
Solução 2: Foi preparada uma solução aquosa com concentração de 2% de cloreto de cálcio, sob agitação manual, para ocorrer diluição. A **solução 1** foi sugada por uma seringa de 20 mL e gotejada por gravidade sobre a **solução 2**. Depois de formadas, as microcápsulas ficaram em repouso na **solução 2** por aproximadamente 2 minutos. Com o auxílio de uma peneira, as microcápsulas formadas foram drenadas e imersas em um recipiente com água para a retirada de algum resíduo da **solução 2**. Após a lavagem, estas foram acondicionadas em potes de vidro com capacidade de 40g, e armazenadas a temperatura de refrigeração a 5±1°C, onde foram caracterizadas (**Figura 13**)

Figura 11 - Esquema do processo de microencapsulação do extrato aquoso da erva cidreira (*Melissa officinalis* L.).



Fonte: Autor (2020)

Figura 12 - Imagem ilustrativa do processo de microencapsulação do extrato de erva cidreira por gelificação iônica.



Fonte: Autor (2020)

Figura 13 - Imagem das microcápsulas do extrato de erva cidreira obtidas pelo processo de microencapsulação por gelificação iônica.

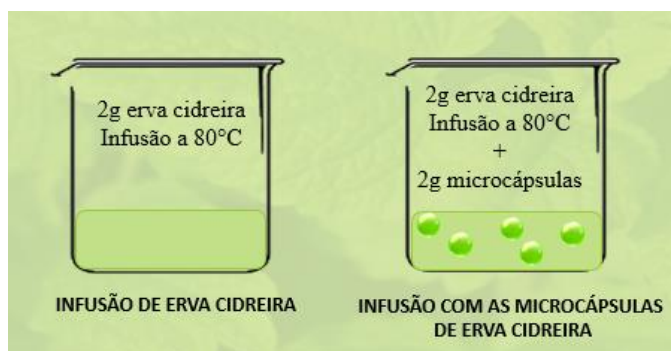


Fonte: Autor (2020)

4.10. Obtenção do produto final

Após o preparo do extrato foi realizada a microencapsulação e por final as microcápsulas produzidas foram adicionadas a uma infusão de erva cidreira na proporção de 2g de amostra vegetal in natura mais 2g de microcápsulas, obtendo assim o produto final (**Figura 14**) e realizadas as análises de compostos fenólicos totais, flavonóides totais e teor de antioxidantes da microcápsula e do produto final. **Na Figura 15**, podemos observar a amostra vegetal na sua forma in natura, triturada, as microcápsulas e a infusão de erva cidreira com as microcápsulas.

Figura 14 - Imagem ilustrativa do processamento do produto final: Infusão de erva cidreira com microcápsulas de erva cidreira.



Fonte: Autor (2020)

Figura 15 - Imagem da folha in natura da erva cidreira (*Melissa officinalis* L.), da folha in natura triturada, da microcápsula e do chá de contendo as microcápsulas.



Fonte: Autor (2020)

4.11. Caracterização das Microcápsulas

4.11.1. Tamanho das microcápsulas

Foram avaliados o tamanho das microcápsulas de erva cidreira utilizando um paquímetro digital *Pantec* (**Figura 16**) com a escala de 0 a 150 mm. Este procedimento foi realizado vinte vezes, e o resultado obtido em média

Figura 16 - Medição da microcápsula com o auxílio de um paquímetro digital Pantec



Fonte: Autor, 2020

4.11.2. Peso das microcápsulas

As microcápsulas foram pesadas em balança digital de capacidade de 0,001g – 30g. Este procedimento foi realizado vinte vezes, e o resultado obtido em média.

4.11.3. Rendimento

O rendimento foi obtido pesando o extrato antes do processamento, e as microcápsulas após serem processadas.

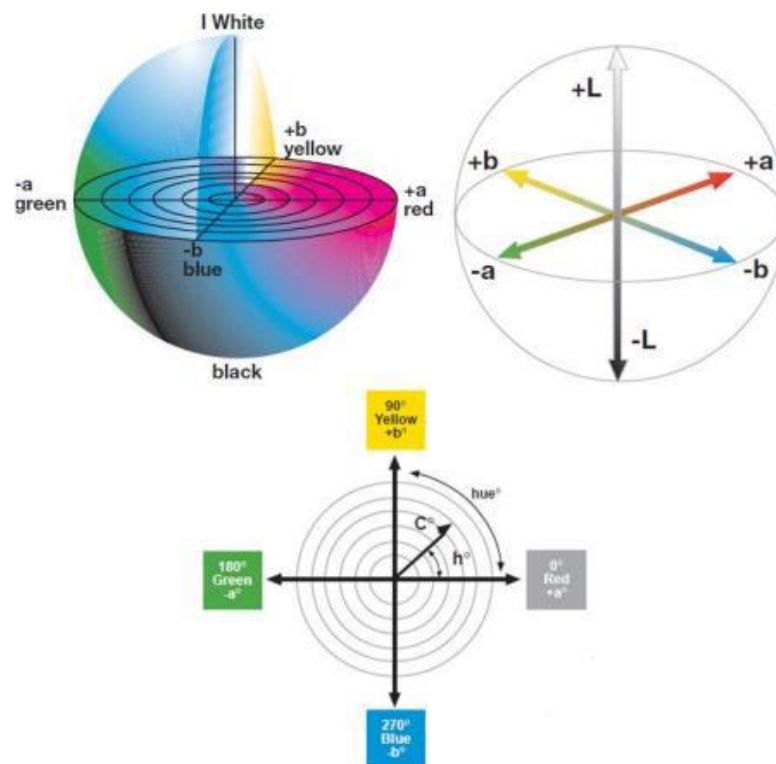
4.12. Análises realizadas com amostra vegetal de erva cidreira, com os extratos e as microcápsulas.

Foram realizadas as seguintes análises em triplicata: cor, cinzas, umidade, potencial hidrogeniônico (pH) , atividade de água (Aw), teor de sólidos solúveis totais (Brix°), carotenóides, clorofila, fenólicos totais, flavonóides totais, capacidade antioxidante pelos métodos: ABTS - Método de captura do ABTS+ (2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), e FRAP - Método da capacidade de redução do Ferro , DPPH - (Captura do radical livre - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil), análise microbiológica de coliformes totais, análise FTIR (espectroscopia na região do infravermelho por transformada nano-Fourie), compostos voláteis por cromatografia gasosa e análise sensorial.

4.12.1. Análise de cor

As leituras da cor foram obtidas com a utilização do colorímetro Color Meter Minolta 200b. Neste sistema de representação de cor, os valores L^* , a^* e b^* descrevem a uniformidade da cor no espaço tridimensional, em que o valor L^* corresponde a quão claro e quão escuro é o produto analisado (0: preto; 100: branco). Os valores de (a^*) correspondem à escala do verde ao vermelho (a^* negativo, verde; a^* positivo, vermelho) e os valores de (b^*) correspondem à escala do azul ao amarelo (b^* negativo, azul; b^* positivo, amarelo). O ângulo Hue (h°) é o ângulo formado entre a^* e b^* , indicando a saturação da cor do objeto. (MINOLTA, 1994). Pode variar de 0 a 360°, sendo que: 0° corresponde à cor vermelha, 90° ao amarelo, 180° ao verde e 270° ao azul. De acordo com o sistema CIELAB, se o ângulo estiver entre 0° e 90°, quanto mais próximo ao 0° mais vermelho, e quanto mais próximo ao 90° mais amarelo (**Figura 17**).

Figura 17 - Parâmetros de cor segundo método CIELAB



Fonte: Zielnik (2006)

4.12.2. Teor de Cinzas

Para determinar o teor de cinzas foi utilizada metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) adaptada. Onde foram pesadas 5g de folhas in natura e em seguida, carbonizadas e incineradas em mufla a 550°C até obter-se resíduo de coloração cinza esbranquiçada. As cinzas das folhas foram resfriadas até temperatura ambiente em dessecador, pesadas novamente e calculadas o teor de cinzas de acordo com a **equação 2**.

Equação 2 – Equação para o cálculo de teor de cinzas totais.

$$\text{cinzas (\%)} = \frac{m}{m} = \frac{100 \times N}{P} \quad \text{(Equação 2)}$$

Em que: N: nº de g de cinzas; P: nº de g da amostra

4.12.3. Teor de Umidade por Infravermelho

O teor de umidade foi determinado pelo método de umidade sob radiação infravermelha realizada em aparelho “Determinador de Umidade” da marca Quimis, modelo Q533M. O aparelho foi ligado e mantido em repouso por 30 minutos anteriormente às análises, passando por etapa de pré-aquecimento anteriormente à análise de cada amostra. Uma massa de 2 a 5 gramas de cada amostra foi pesada e colocada no prato metálico do aparelho, no qual forneceu diretamente o valor de perda de massa em porcentagem.

4.12.4. Potencial hidrogeniônico (pH)

Para determinação do pH, foi utilizado o método potenciométrico seguindo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005,017/IV). O pH foi aferido em potenciômetro da marca Tecnopon, modelo MPA-210, calibrado com soluções-tampão no pH 4 e 7 a 20°C.

4.12.5. Atividade de água (Aw)

Parâmetro intrínseco importante, e para determinação deste, utilizou-se o equipamento Aqualab para leitura.

4.12.6. Sólidos Solúveis (°Brix)

Foi utilizado um refratômetro conforme a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz, 2005. Onde foram pesadas 2g de amostra in natura, e em seguida adicionado 20 ml de água destilada e a mistura foi macerada. Através da leitura direta no refratômetro os resultados foram expressos em °Brix e anotados.

4.12.7. Carotenóides

Para análise de carotenóides foram pesadas 2g da amostra e transferida para um almofariz. E adicionado ao almofariz 0,2g de carbonato de cálcio e 7 ml de acetona a 80% com posterior homogeneização. O extrato foi filtrado diretamente no balão volumétrico de 25 mL envolto por papel alumínio. O resíduo do papel de filtro foi lavado 2 vezes com acetona a 80% e completado o volume com acetona a 80%. Os teores de carotenóides foram avaliados seguindo o método proposto por Lichtenthaler (1987). O teor de carotenoides foi estimado a partir da leitura do extrato filtrado em espectrofotômetro a 646,8 e 663,2 e 470 nm e os resultados expressos em µg/g de carotenoides. A concentração foi estimada de acordo com as seguintes **Equação 3**:

Equação 3 – Equação para o cálculo do teor de carotenoides totais.

$$(Ca) = 12,25 \times A_{663,2} - 2,79 \times A_{646,8}$$

$$\text{Clorofila b (Cb)} = 21,50 \times A_{646,8} - 5,10 \times A_{663,2} \quad (\text{Equação 3})$$

$$\text{Carotenóides} = [1000 \times A_{470} - (1,82 \times Ca - 104,96 \times Cb)]/198$$

Para transformar os valores encontrados em µg.mL⁻¹ para µg.g, faz-se necessário a multiplicação desse resultado por 25mL (volume do balão) dividindo-se pelo peso da amostra (LICHTENTHALER, 1987).

4.12.8. Clorofila

Foi pesado 2 g de amostra e transferido para o almofariz e adicionado 0,2 de carbonato de cálcio e 7 mL de acetona a 80% e homogeneizar. Foi filtrado o extrato diretamente no balão volumétrico âmbar de 25 mL onde o resíduo do papel foi lavado 2 vezes com acetona a 80%, completando o volume do balão volumétrico com acetona a 80%. Realizou-se leitura das absorbâncias em espectrofotômetro com dois comprimentos de onda distintos: 663 nm (clorofila a) e 647 nm (clorofila b). O teor da clorofila foi calculado usando as **equação 4** (LICHTENTHALER, 1987):

Equação 4 – Equação para o cálculo do teor de clorofila total.

$$\text{Clorofila a (ug.gMF-1)} = [(12,25.A_{663}) - (2,79.A_{647})] \cdot V$$

$$\text{Clorofila b (ug.gMF-1)} = [(21,50.A_{647}) - (5,10.A_{663})] \cdot V \quad \text{(Equação 4)}$$

$$\text{Clorofila a+b (ug.gMF-1)} = (7,15.A_{663}) + (18,71.A_{647}) \cdot V$$

4.13. Análise microbiológica

4.13.1. Coliformes totais

As análises microbiológicas, foram realizadas no laboratório de microbiologia do Departamento de Tecnologia de Alimentos em parceria com a Professora Tatiana Pacheco Nunes, seguindo os protocolos de Downes e Ito (2015). Todos os meios e materiais utilizados foi esterilizados em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Para a determinação de Coliformes totais, primeiramente foi realizado o teste presuntivo preparando três diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) em água peptonada da amostras de erva cidreira e da microcápsula, 1mL de cada diluição foram inoculadas em três séries de três tubos contendo 9 mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), com tubo de Duhran invertido. As amostras foram incubadas a 35 °C durante 48 horas. Após o tempo de incubação, separou-se os tubos que apresentarem turvação do meio e gás no interior do tubo de Duhran. Em caso de turvação as amostras positivas foram encaminhadas para o teste de confirmação para coliformes termotolerantes. Esse teste consistiu em transferir com auxílio de alça, um inóculo de cada tubo positivo de caldo LST para outro tubo contendo caldo EC. Para controle da temperatura, os tubos de caldo EC com amostra positiva foram

incubados a 45 °C em banho maria durante 24 horas. A leitura dos tubos foi realizada observando turvação e formação de gás, e os resultados expressos em Número Mais Provável (NMP/g).

4.14. ANÁLISE FTIR (espectroscopia na região do infravermelho por transformada nano-Fourie)

Os espectros de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR) foram obtidos em um espectrômetro Cary 630 FTIR (Agilent Technologies, Malásia). A faixa espectral utilizada foi de 650 a 4000 cm^{-1} , com 4 cm^{-1} de resolução, e 256 varreduras para todas as amostras. Primeiramente, 10 μL da amostra foram espalhados sobre a superfície do cristal de ATR, posteriormente a obtenção do espectro foi realizada. Entre as amostras, o acessório ATR foi limpo com acetona P.A., e o espectro de fundo foi obtido.

4.15. Extração, separação e identificação dos compostos voláteis por cromatografia gasosa (GC) acoplada ao espectro de Massa (MS).

Foi realizado a extração utilizando-se metodologia de Lau et al. (2017), com adaptações, onde utilizou 2g de amostra, com tipo de fibra gray, sob controle de temperatura a 80°C, durante 60 minutos, mantendo o tempo de dessorção em 1 minuto e o tempo de equilíbrio de 10 minutos.

As condições do GC foram as seguintes: temperatura do injetor 250 ° C; modo sem divisão; gás portador de hélio; caudal da coluna 1,2 mL / min. O gradiente de temperatura utilizado começou a 50 ° C por 5 min, seguido de aumentar para 240 ° C a 5 ° C / min e mantida a 240 ° C por 10 min. O FID a temperatura era de 300 ° C e o MSD estava no impacto de elétrons (EI) modo a 70 eV. A identificação dos compostos voláteis foi alcançada combinando o espectro de massa com um banco de dados interno e biblioteca NIST 14 MS e confirmada ainda com os índices de retenção linear (IRR) dos compostos padrão internos (alimentos grau, pureza > 95%) fornecidos pela Mane SEA Pte Ltd.

4.16. Análise estatística

As determinações analíticas foram realizadas em triplicata. Os resultados foram submetidos a análises de variância (ANOVA); e teste de Tukey ($p > 0,05$) para amostras com

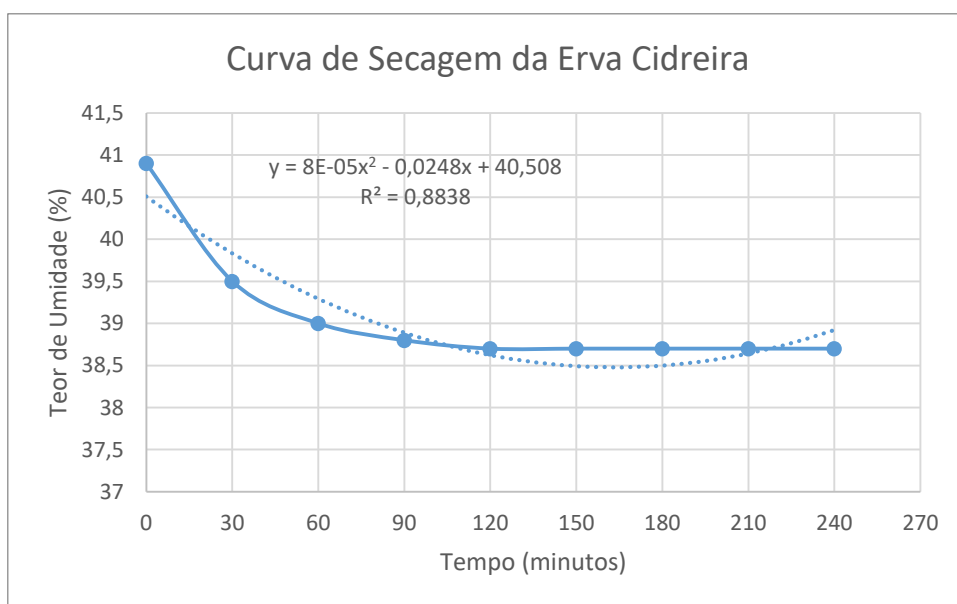
três ou mais grupos; e teste t não pareado, para amostras com apenas dois grupos de comparação. As determinações foram feitas com auxílio do *software* GraphPad Prism® 5 for Windows, versão 5.1.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Obtenção da curva de secagem para preparo do extrato a partir da amostra vegetal seca.

Para o preparo dos extrato a partir da amostra vegetal seca, foi necessário o acompanhamento do teor de água da erva cidreira durante a secagem, permitindo a determinação da curva de secagem, estimando a redução do teor de água na erva por unidade de tempo. Além disso, sob temperatura constante, foi possível determinar o tempo aproximado de secagem até a atingir o valor de umidade constante, conforme **Figura 16**.

Figura 18 - Curva de secagem da erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) representando o comportamento da umidade em relação ao tempo sob temperatura constante.



Observou-se perda da umidade até os 120 minutos sob controle de temperatura, após esse tempo a umidade apresentou-se constante, podendo assim concluir o tempo de secagem em torno de 120 minutos a uma temperatura constante de 50°C. Neste tipo de método de desidratação, o ar quente circula em contato com o material úmido provocando a retirada da água por evaporação. Os fatores que influenciam a secagem são tamanho da partícula do alimento, distribuição do produto no secador, temperatura, umidade e velocidade, além da troca de calor eficiente dentro da estufa de circulação de ar (FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2013).

5.2. Análise dos compostos bioativos e atividades antioxidantes do extratos

No presente estudo, foram realizadas as análises de compostos fenólicos totais e flavonoides totais (**Tabela 2**) dos quatros tipos de extratos obtidos a partir da amostra de erva cidreira (*Melissa. officinalis* L.).

Tabela 2 - Análises dos compostos bioativos dos 4 tipos de extratos da erva cidreira (*Melissa officinalis* L.)

AMOSTRA VEGETAL	FENÓLICOS	FLAVONOIDES
In natura/ infusão	236,52±23,94 ^a	100,81±2,07 ^a
Seco/ infusão	180,90±23,08 ^b	93,26±1,66 ^b
In natura/água	199,28±11,59 ^{b,c}	102,53±2,9 ^{a,b}
Seco/água	159,40±14,81 ^c	44,54±1,69 ^c

Resultados expressos em média (n=3) ± desvio padrão. Letras distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (p<0,05) – Análise de variância (ANOVA) com teste de Tukey, considerando p<0,05 como diferença estatisticamente significativa. *EAG = Equivalentes ao ácido gálico; **ECAT = Equivalentes à catequina

No que tange os valores dos compostos bioativos analisados nos diferentes tipos de extratos, obteve-se os maiores resultados de compostos fenólicos totais para o extrato da amostra vegetal in natura/infusão de 236,52±23,94mg EAG/100g diferindo significativamente (p<0,05) dos demais tipos de extratos.

Para o teor de flavonoides totais, o extrato da amostra vegetal in natura/infusão, foi de 100,81±2,07 mg ECAT/100g, sendo que o extrato da amostra in natura/infusão e in natura/água, não tiveram diferença significativa (p<0,05), porém apresentaram diferença significativa (p<0,05) para os demais extratos

A espécie *M. officinalis* L. e seus compostos fenólicos exercem atividade antioxidante através da eliminação de radicais livres, inibição da peroxidação lipídica e aumento do endógeno enzimas antioxidantes. Portanto, os efeitos terapêuticos de *M. officinalis* na prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como doenças neurodegenerativas e cardiovasculares doenças podem ser atribuídas à sua atividade antioxidante (BAYAT et al., 2012).

Em um estudo para determinação simultânea de 24 fenólicos, incluindo carvacrol e timol, em plantas da família Lamiaceae, pelo método cromatográfico líquido de alto

desempenho envolvendo detecção de arranjo de diodos, a espécie *Melissa officinalis* L. exibiu a maior atividade antioxidante entre as amostras da família Lamiaceae (SKENDI; IRAKLI; CHATZOPOULOU, 2017).

Similar às outras espécies da família Lamiaceae, *M. officinalis* L. apresenta altos teores de ácidos fenólicos, particularmente os derivados do ácido cafeico, como o ácido rosmarínico (BARROS et al., 2013; FECKA; TUREK, 2007; MILEVSKAYA et al., 2017), que têm sido associados à alta capacidade antioxidante desta erva (DASTMALCHI et al., 2008; PROESTOS et al., 2005; SKOTTI et al., 2014), e também às suas atividades antiproliferativas (LIN et al., 2012) e antiprotozoárias (CUNHA et al., 2016).

Barros et al. (2013), avaliaram os perfis fenólicos de diferentes amostras de erva-cidreira, preparadas como infusões, onde estes perfis foram comparados para entender as diferenças entre amostras cultivadas e comerciais in vitro (sacos e granulados), e todas as amostras mostraram um similar perfil fenólico, apresentando diferenças apenas nas quantidades encontradas de cada composto, mostrando assim, que a infusão de erva-cidreira é uma boa fonte de compostos fenólicos, conhecido por seus efeitos bioativos.

Amplamente distribuídos no reino vegetal, os flavonóides são produtos naturais que compõem uma das principais classes de metabólitos secundários, tendo uma ampla variedade de estruturas e significado ecológico, como pigmentos coloridos em muitas pétalas de flores por exemplo, e servem como compostos marcadores quimiotaxonômicos, apresentando diversa atividades biológicas (SANTOS et al., 2017).

Os flavonóides constituem um dos principais grupos de antioxidantes que apresentam atividades proliferativas em inúmeras linhas celulares de câncer inibindo o crescimento do tumor em modelos animais. Um grande conteúdo de substâncias fenólicas presentes em extratos alimentares derivados de plantas correlacionam-se, positivamente em uma extensão variável com atividade preventivas para o câncer (ROLEIRA et al., 2015).

Segundo Ferrera et al. (2016), os flavonóides presentes nas plantas conferem o brilho do amarelo, azul, vermelho, e do laranja nas folhas, flores e frutos e essa substância, possui uma ação anti-inflamatória, benéfica no controle da esteatose hepática (cirrose), nas infecções intestinais, e no auxílio à cicatrização da pele.

Na família Lamiaceae, os flavonóides ocorrem em todas as partes da planta, mas o conteúdo mais rico é geralmente encontrado nas partes aéreas (ULUBELEN, 2003). Os flavonóides são uma família de metabólitos secundários vegetais que contêm um heterociclo

benzopirano ligado a um anel de benzeno (TESTAI, 2015). Numerosas atividades biológicas e farmacológicas têm sido relatadas para flavonóides, incluindo antioxidantes, anti-inflamatórios, antimicrobianos, anticâncer, atividades anti-HIV, anticoagulante, imunomoduladora, antitubercular e antialérgica (CAO et al., 2015).

Em uma análise comparativa da composição de compostos bioativos de 26 plantas medicinais, foi encontrado maiores teores de fenólicos totais, flavonóides totais e atividade antioxidante para as espécies *Stachys byzantine* L. (*Lamiaceae*), *Calendula officinalis* L. (*Asteraceae*) e para *Potentilla recta* L. (*Rosaceae*), sendo as espécies da família *Lamiaceae*, rica em diversos compostos bioativos (SYTAR et al., 2018).

Nos estudos de Weidner et al 2015, mostraram que a erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.) contém compostos utilizados para inibição e controle do crescimento de células cancerígenas, onde através da utilização do extrato de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) houve a inibição da proliferação de células de carcinoma do cólon. O extrato também induziu a apoptose através da formação de espécies reativas de oxigênio. Os resultados mostraram que o extrato hidroalcoólico da erva-cidreira possui um forte potencial para inibição da proliferação de vários tecidos cancerígenos de acordo com a dose.

Estudos realizados por Atanassova, Georgieva e Ivancheva (2011), também concluíram um alto teor de compostos fenólicos para a *Melissa officinalis* de 48.86 mg GAE/100g de folha seca, comparado com outras ervas da família *Lamiaceae*, *Salvia officinalis* (sálvia) e *Mentha piperita* (hortelã), que tiveram o total de 27.94 mg GAE/100g e 45.25mg GAE/100g, respectivamente, mesmo utilizando outra metodologia para análise, apresentou elevados teores de compostos fenólicos tanto na espécie *Melissa officinalis*, como também em outras espécies da mesma família.

Os antioxidantes e suas propriedades estão amplamente difundidos e muitos métodos vêm sendo estudados para determinar a atividade antioxidante e a eficácia de compostos químicos ou extratos vegetais (VIRGOLIN; SEIXAS; JANZANTTI, 2017). Os métodos apresentam diferentes princípios para avaliar o potencial antioxidante dos compostos e/ou extratos. Os métodos de varredura do radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) e varredura do radical ABTS•+ [2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico)], avaliam a transferência de elétrons dos compostos presentes na amostra para o radical, já o método da capacidade redutora do ferro (FRAP) avalia o quanto os compostos presentes em determinada amostra são capazes de reduzir o ferro da sua forma férrica a ferrosa. Em relação às ervas os

métodos FRAP e ABTS são frequentemente utilizados para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* recomendando-se a combinação de mais de um método (ZOU et al., 2016) pois vale ressaltar que apenas um método não é suficiente para prever a capacidade antioxidante do composto analisado, e deve-se, portanto, associar protocolos baseados em diferentes mecanismos de ação, visto que são diversos os tipos de radicais livres e a forma de atuação no organismo (ALVES et al., 2010; MENG et al., 2017; SHAHIDI; ZHONG, 2015)

A mensuração da atividade antioxidante DPPH é um dos mais utilizados em produtos naturais; no entanto, devido a certas deficiências com esse método, um ensaio alternativo baseado na eliminação do ABTS +, um radical central de nitrogênio moderadamente estável, foi utilizado (KOLEVA et al., 2002). A eliminação do radical livre ABTS + supera as limitações do método DPPH, como solubilidade e problemas de interferência espectral. O modelo ABTS + é mais versátil, utilizado tanto para amostras polares quanto amostras não polares e podem ser avaliadas quanto à sua atividade de eliminação e a interferência espectral é minimizada com absorção máxima de 760 nm (RE et al., 1999). Além disso, com a ajuda deste método, é possível monitorar a atividade da amostra durante um período específico de tempo. Desta forma, amostras com diferentes taxas de atividade antioxidante podem ser investigada. No presente estudo, foram realizadas as análises do teor de antioxidantes (**Tabela 3**) dos quatro tipos de extratos obtidos a partir da amostra de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.).

Tabela 3 - Análises do teor de antioxidantes dos 4 tipos de extratos da erva cidreira (*Melissa officinalis* L.)

AMOSTRA VEGETAL	DPPH	FRAP	ABTS
In natura/ infusão	25,24±1,21 ^a	1272±7,22 ^a	81,10±9,72 ^a
Seco/ infusão	33,13±0,43 ^b	949,40±4,42 ^b	88,45±0,21 ^a
In natura/água	13,97±3,04 ^c	820,21±8,84 ^{b,c}	71,68±10,24 ^a
Seco/água	16,06±0,60 ^c	451,35±8,84	81,72±4,65 ^a

Resultados expressos em média (n=3) ± desvio padrão. Letras distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (p<0,05) – Análise de variância (ANOVA) com teste de Tukey, considerando p<0,05 como diferença estatisticamente significativa.

Foram observados maiores valores de atividade antioxidante pelo método FRAP, onde o extrato da amostra vegetal in natura/infusão apresentou 1272±7,22 µM Eq Trolox/100g,

diferindo significativamente dos demais extratos. Dentre as análises antioxidantes realizadas, a forma de atuação do método FRAP é de suma relevância, devido a utilização de água para o preparo do extrato.

Para a análise antioxidante pelo método DPPH, foi obtido valor de $25,24 \pm 1,21\%$ de varredura para o extrato da amostra vegetal in natura/infusão, valor este inferior e diferente significativamente do valor para o extrato da amostra seca/infusão, porém dentre os outros parâmetros utilizados, este foi o único valor maior para esse tipo de extrato. Na análise antioxidante pelo método ABTS, obteve-se valores similares para todos os tipos de extratos analisados, não diferindo significativamente e apresentando valor de $81,10 \pm 9,72\%$ de varredura para o extrato da amostra vegetal in natura/infusão. Pode-se concluir que os melhores resultados para as análises realizadas, foi o do extrato feito com amostra vegetal in natura na forma de infusão à 80°C , sendo também o que mais se assemelha a ampla utilização dessa forma de consumo pela população, corroborando diversos estudos que mostram a vasta utilização das folhas de plantas medicinais, na forma de infusão/chá (BERNARDES, 2012; CASTELLUCCI, 2000; FREITAS et al., 2015; LUCENA et al., 2013; VALERIANO et al., 2019).

Segundo Duda, et al. (2015), os diferentes métodos e formas de expressão dos resultados entravam comparações com trabalhos equivalentes na literatura, pois há uma sequência de fatores que afetam a qualidade e quantidade de antioxidantes da planta, como o horário de colheita, o tipo de solo, condições climáticas, métodos antioxidantes, extração e solventes, tempo de armazenamento das plantas ou extratos, como também, para cada região, as condições não somente biológicas, como externas, contribuem para o teor antioxidante. O teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante também variam em função do solvente utilizado para extração.

A vantagem principal destes métodos é a rapidez e a simplicidade, mas seus resultados são influenciados por muitos fatores, como a interação de vários compostos bioativos e nutrientes os quais atuam por diferentes mecanismos de ação

5.3. Caracterização das microcápsulas

O presente estudo observou peso e tamanho médio das microcápsulas do extrato aquoso de erva cidreira de $0,0373\text{g} \pm 0,0065$ e $3,96\text{ mm} \pm 0,0235$, respectivamente, caracterizando-se assim como microcápsulas, segundo o estudo de Baker e colaboradores (2014) que classifica

as cápsulas pelo tamanho em três categorias: macro- ($>5000 \mu\text{m}$), micro ($0,2-5000 \mu\text{m}$) e nanocápsulas $< 0,2 \mu\text{m}$. A média do rendimento das microcápsulas em relação ao extrato erva cidreira foi de 67,54%, visto que foi desconsiderada as microcápsulas que não estava no formato esférico.

5.4. Caracterização físico-química da amostra in natura de erva cidreira e das microcápsulas.

As análises físico-químicas são de suma importância para a determinação da composição nutricional do alimento, além de auxiliar na determinação dos fatores intrínsecos (como o pH, atividade de água, teor de umidade, cinzas, sólidos solúveis) que podem propiciar o crescimento microbiano, alterando a qualidade do alimento. Outro ponto que deve ser enfatizado é a influência dos fatores ambientais na biossíntese dos metabólitos secundários como clima, tipo de solo, época de coleta, etc.

Foi realizada a caracterização físico-química da amostra de erva cidreira (*Melissa Officinalis L.*) in natura e da microcápsula do extrato aquoso de erva cidreira por infusão à 80°C como mostra a **Tabela 4**.

Tabela 4 - Caracterização físico-química da amostra de erva cidreira (*Melissa Officinalis L.*) in natura e da microcápsula do extrato aquoso de erva cidreira por infusão à 80°C .

	Erva cidreira <i>in natura</i>	Microcápsula
Umidade (%)	$79 \pm 0,01$	$97 \pm 0,01$
Cinzas (%)	$2,76 \pm 0,002$	$0,87 \pm 0,001$
Atividade de água (A_w)	$0,9805 \pm 0,01$	$0,9948 \pm 0,01$
Sólidos Solúveis ($^\circ\text{Brix}$)	$0,3 \pm 0,01$	$1,43 \pm 0,02$
pH	$8,5 \pm 0,01$	$6,63 \pm 0,25$

Valores são médias \pm desvio padrão (n=3).

O excesso de umidade em matérias primas vegetais está diretamente correlacionado com sua degradação física, química e microbiológica, e por isso a medida do conteúdo de água nestes materiais se faz necessária a fim de melhor se controlar sua qualidade, estabilidade e segurança (CECCHI, 2003; FARIAS, 2003; FRAZIER, 2009; MAUER; BRADLEY, 2000).

Com a finalidade de diminuir o tempo necessário para a análise, foram criados métodos com fontes de calor mais eficientes (CAMPBELL-PLATT, 2009; ISENGARD; PRÄGER, 2003). Determinadores ou Analisadores de Umidade são aparelhos que consistem em uma balança acoplada a um sistema de aquecimento por radiação infravermelha, que proporciona liberação das moléculas de água de maneira mais rápida do que o calor por convecção fornecido pelas estufas convencionais (BORGES et al., 2005).

Os resultados de umidade obtidos através da análise de umidade por infravermelho, foram de, 79% de umidade para a amostra in natura, 7% para amostra seca e 97% para a microcápsula do extrato de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.). Segundo Borges et al. (2012), a análise das amostras vegetais in natura de outras espécies da família *Lamiaceae*, apresentou teores de umidade de 78,26% na alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) e 72,72% no orégano (*Origanum vulgare* L.), corroborando com o resultado obtido para a *Melissa officinalis* L.), obteve-se em outros estudos com espécies da família *Lamiaceae*, os valores de 56,08% no tomilho (*Thymus vulgaris* L.), e 84,67%, nas folhas de manjerição (*Ocimum basilicum* L.) (HENRIQUE; FERREIRA; NUNES, 2017; LIMA, 2013; ÖZCAN; ARSLAN; ÜNVER, 2005).

Assim, pode-se observar que a erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) in natura apresentou valores de umidade dentro da faixa de normalidade encontrada dentre as outras espécies pertencentes à mesma família. Vasconcelos e Filho (2010), afirmam que a umidade interfere na estabilidade, qualidade e composição do alimento, sendo de extrema relevância a determinação do teor de umidade de um alimento.

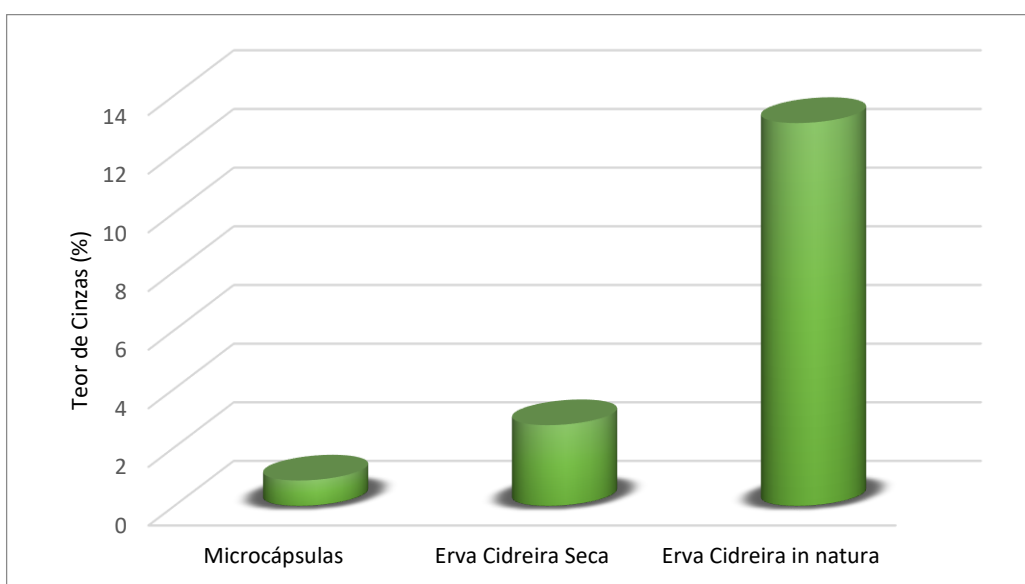
O teor de umidade da amostra vegetal seca foi de 7%, valor mais baixo de umidade devido ao processo de secagem, corroborando com os valores encontrados nas espécies *Matricaria recutita* L., camomila, 10,01% e *Pimpinella anisum* L., erva-doce, 8,34% (MACIEL, 2017).

Obteve-se o teor de 97% de umidade nas microcápsulas do extrato de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) analisadas, onde esse aumento da umidade apresentado pode ser

explicado, dado ao processo de obtenção das microcápsulas ser realizado por uma imersão em água a qual pode ter provocado a absorção pelo produto final.

No que tange a análise do teor de cinzas totais das amostras analisadas, obteve-se maior teor de cinzas na amostra vegetal seca ($13,06\% \pm 0,006$), e menor valor ($0,87\% \pm 0,001$) para as microcápsulas, como apresentado na **Figura 19**. O teor de substâncias inorgânicas, resultantes da completa incineração de material de origem vegetal submetido à análise química, indica a riqueza da amostra em elementos minerais. No presente estudo obteve-se o valor de cinzas totais para amostra vegetal in natura de $2,76\% \pm 0,002$, onde a incineração da amostra leva à formação de resíduo cujo peso percentual deve ficar entre determinados limites, pois quando uma amostra é adulterada o teor de cinzas vai aparecer aumentado (SILVA et al., 1996).

Figura 19 - Teor de cinzas totais da *Melissa officinalis* L. in natura, seca e após o processo de microencapsulação.



Segundo Fiuza et al 2010, que analisaram as folhas da espécie *H. canun* também da família *Lamiaceae*, encontrou teor de cinzas totais de 6,34%, já Cardoso 2016, obteve teor médio de cinzas de 3,7% nas amostras de *Melissa officinalis* L., corroborando os valores encontrados no presente estudo. Essa variação no teor de cinzas totais é influenciada pela região em que a planta encontra-se, pelo tipo de solo, horário da colheita, entre outros fatores.

Os resultados de atividade de água (A_w) obtido para as amostras, foram de $0,9805 \pm 0,01$ ($24,51^\circ\text{C}$) para amostra in natura, $0,2508 \pm 0,01$ ($25,04^\circ\text{C}$) para amostra seca e $0,9948 \pm 0,01$ ($25,11^\circ\text{C}$) para as microcápsulas. A quantidade de água nos produtos pode ser medida de

várias maneiras, porém nem todos os métodos informam real sobre a disponibilidade da água para os microrganismos, uma vez que encontramos água livre e água combinada nos alimentos. A água disponível em produtos higroscópicos é indicada pela atividade de água (A_w) ou pela umidade de equilíbrio com a umidade relativa do ar, iguais numericamente quando atingem o equilíbrio (BROOKER; BAKKER-ARKEMA; HALL, 1992). Segundo Beuchat (1981), o limite mínimo de atividade de água para o crescimento dos micro-organismos é de 0,60 A_w enquanto, para a produção de toxinas, o limite é de 0,83 A_w , mostrando assim que tanto a folha in natura, quanto as microcápsulas apresentam elevada atividade de água, sendo de fundamental importância, a imersão da microcápsula em um produto para melhor conservação desta.

O teor de sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$), são determinantes para avaliar o estado de maturação de frutas. Os açúcares são os principais sólidos solúveis encontrado nas frutas, e aumentam de acordo com a permanência do fruto na planta. Um conteúdo elevado de sólidos solúveis é sinal de uma fruta colhida em um estágio de maturação mais avançado, com todos os compostos responsáveis pelo seu aroma, sabor e características organolépticas, sendo expressa em graus $^{\circ}\text{Brix}$ (CEAGESP, 2016). A determinação de sólidos solúveis é uma ferramenta utilizada pela indústria na determinação aproximada do teor de açúcares de seus produtos, uma vez que representam o conteúdo de açúcares solúveis, ácidos orgânicos e outros constituintes menores (PIMENTA et al., 2014). Foram analisados inicialmente os valores de $^{\circ}\text{Brix}$ dos quatro tipos de extrato preparados, onde o extrato aquoso com amostra vegetal seca/ infusão apresentou maiores valores de grau $^{\circ}\text{Brix}$, como mostra o **Tabela 5**.

Tabela 5 - Valores do teor de $^{\circ}\text{Brix}$ nos quatros tipos de extratos de erva cidreira.

	$^{\circ}\text{Brix}$	
	Amostra <i>in natura</i>	Amostra seca
Água fria	0,11 \pm 0,03	0,88 \pm 0,09
Água quente (infusão)	0,17 \pm 0,07	1,09 \pm 0,11

Valores são médias \pm desvio padrão (n=3).

Os resultados de sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$) encontrados foram de $2,7 \pm 0,1$ $^{\circ}\text{Brix}$ para amostra vegetal seca, $0,3 \pm 0,0$ $^{\circ}\text{Brix}$ para amostra vegetal in natura, $1,43 \pm 0,1$ $^{\circ}\text{Brix}$ para as microcápsulas (**Tabela 6**), observando que o maior valor encontrado para microcápsula pode ter interferência do material utilizado como agente gelificante, não significando assim que a microcápsula apresenta maior valor.

Tabela 6 - Valores de °Brix da amostra vegetal in natura e das amostras processadas.

	°Brix
Amostra in natura	0,3 ± 0,01
Amostra seca	2,7 ± 0,01
Extrato in natura/infusão	0,17 ± 0,07
Microcápsula	1,43 ± 0,02
Produto final (chá + microcápsula)	0,2 ± 0,01
Infusão	0,36 ± 0,01
Microcápsula do produto final	0,1 ± 0,00

Valores são médias ± desvio padrão (n=3).

Podemos observar que o valor de °Brix da microcápsula era de 1,43 e no produto final foi reduzido para 0,1; e também o valor de Brix° do produto final era de 0,2 aumentando para 0,36, mostrando assim que o teor de sólidos solúveis migrou da microcápsula para a infusão.

Obtiveram-se valores maiores em outras espécies da família *Lamiaceae*, como no estudo com o manjerição (*Ocimum basilicum* L.), em que o valor foi de 3,0 °Brix (HENRIQUE; FERREIRA; NUNES, 2017), como também no estudo de Ferreira et al., (2015), o valor foi de 2,95 °Brix em manjerição de cultivo orgânico. De acordo com Chaicouski et al. (2014), o teor de sólido solúvel em um alimento representa a quantidade de solutos dissolvidos na água, sendo constituído basicamente de açúcares, principalmente a sacarose, frutose e a glicose.

A indústria utiliza o controle de pH como uma das ferramentas disponíveis a fim de controlar processos de deterioração devido ao crescimento microbiano. Portanto, a determinação do pH é de suma importância uma vez que grande parte dos microrganismos crescem em ambientes com pH entre 5 e 9, considerando valores abaixo de 4,5 ideais por não ocorrer o desenvolvimento de *Clostridium botulinum* e de bactérias patogênicas (MADIGAN et al., 2008).

No que concerne a análise de pH dos extratos preparados obtivemos o maior valor de pH para o extrato in natura/infusão 80°C de 7,95±0,05, seguindo do extrato in natura/água de 7,47±0,1, extrato da amostra seca/infusão de 7,02±0,01 e por fim o extrato da amostra seca/água de 7±0,03, apresentando assim um caráter de pH mais alcalino, próximo a neutralidade. Corroborando os resultados de Lins et al (2015) que quantificaram os compostos bioativos presentes nas espécies de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) e capim cidreira (*Cymbopogon citratus*), comercializados na feira livre de Campina Grande, obtendo valor de 7,20 para o pH da *Melissa officinalis* L. Segundo Oliveira e Soares 2012, a alfavaca que é uma hortaliça também pertencente à família *Lamiaceae*, obteve pH igual a 7,21. No estudo de Costa de Souza

et al (2012) analisaram os aspectos físico-químicos da *Lavandula officinalis* Chaix & Kitt popularmente conhecida como alfavaca das flores, pertence à família Lamiaceae onde encontraram valores próximos ao presente estudo para o teor de °Brix (0,2) e pH (7).

Na análise de cor pode-se localizar uma determinada cor no espaço com as coordenadas L, a*, b*. A interpretação dos valores obtidos por meio da leitura indica se a amostra é mais escura, amarelada ou azulada. Estes valores podem apresentar-se positivos ou negativos. Quanto maior os valores mais para fora do espaço (distanciando do meio do plano) à amostra analisada, mais pura e pigmentada ela será, uma vez que quanto mais material misturado na amostra mais difícil de realizar a leitura, e os valores estão mais para o meio do plano (RHODEN, 2010).

No que tange os parâmetros de cor analisados (**Tabela 7**), a amostra apresenta-se para o lado a negativo, mostrando assim a coloração verde, sendo mais acentuada na amostra seca, seguida da in natura e a coloração verde menos acentuada na microcápsula, devido ao uso do agente gelificante de coloração amarelada. Apresentou resultado b positivo, em direção ao amarelo, acentuado na microcápsula devido ao processamento. A amostra seca apresentou coloração verde mais escuro devido a retirada da água concentrar a matéria orgânica, e apresentando-se com tonalidade mais clara para amostra in natura, devido aos processos fotossintéticos e mais claro ainda para a microcápsula, devido ao processamento. O ângulo Hue (h) mostra a saturação da cor mais próximo ao 180°C, o verde para ambas as amostra, sendo mais acentuado para a amostra vegetal seca.

Tabela 7.- Valores médios da análise dos padrões colorimétricos da erva cidreira

Amostra	Parâmetro				
	a*	b*	C*	L*	h*
Erva seca	-0,27	17	17	32,2	91,03
In natura	-1,17	13,40	13,50	27,77	85,07
Microcápsula	-4	20,23	20,6	12,4	78,8

a* – Coordenada vermelho/verde; b* – coordenada amarelo/azul; C* – saturação; L* – luminosidade; h* – ângulo de cor. Valores são médias (n=3).

A qualidade geral da cor baseada no sistema CIELAB para folhas de *M. officinalis* foi avaliada em um estudo publicado por Argyropoulos e Müller (2011), onde foi apresentado o valor da tonalidade, pois foi comprovado como o melhor parâmetro para representar a impressão visual do escurecimento das folhas das plantas, e a secagem por convecção influenciou significativamente a cor das folhas de erva-cidreira pelo valor h*, corroborando

com os resultados do presente estudo onde também pode-se observar que as folhas secas apresentaram coloração mais verde.

Os carotenóides são importantes compostos antioxidantes, combatendo o estresse oxidativo e impedindo o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Evitam a formação de catarata e atuam melhorando o sistema imunológico (KULCZYŃSKI et al., 2017). Segundo Marengo e Lopes (2009), ambas estão presentes nas membranas dos cloroplastos, mais precisamente nos tilacóides, ligados não covalentemente a moléculas de proteínas e possuem um importante papel no processo fotossintético, a clorofila como principal captador da energia fotossintética e os carotenoides como acessórios, dissipando na forma de calor o excesso de radiação. Este sistema é um dos fatores mais importantes para o crescimento e adaptação das plantas aos mais variados ambientes (RÊGO; POSSAMAI, 2004).

A erva cidreira (*M. officinalis*) apresentou o valor de carotenoides de $1,64 \pm 0,25$ mg.100g⁻¹, para amostra in natura, entretanto para clorofila total, apresentou valor de $4,32 \pm 1,14$ mg.100g⁻¹. Mas ao analisarmos os resultados da clorofila separados em clorofila a e b, encontramos a erva cidreira (*M. officinalis*) com teor de clorofila a ($4,08 \pm 0,95$ mg.100g⁻¹) e teor de clorofila b ($0,21 \pm 0,17$ mg.100g⁻¹).

Rêgo Júnior et al. (2011), na determinação de carotenoides totais em espécies medicinais, verificaram um teor de 1,4 mg.100g⁻¹ na catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tull.), 0,4 mg.100 g⁻¹ no mulungu (*Erythrina velutina* Willd.) e 0,1 mg.100 g⁻¹ na imburana de cheiro (*Amburana cearensis* (Allemão) A.C.Sm.), mostrando que a *Melissa officinalis* apresentou satisfatórios valores de carotenoides e clorofila, em relação a essas outras espécies também utilizadas para fins medicinais.

5.5. Análise microbiológica do produto final

Para a determinação da qualidade microbiológica do chá de erva cidreira com microcápsulas do extrato aquoso de erva cidreira preparado segundo as boas práticas de manipulação e fabricação, foram analisadas amostras do chá de erva cidreira e das microcápsulas, seguindo as boas práticas de manipulação e fabricação, tendo em vista a obtenção de um alimento seguro microbiologicamente, para que pudesse ser ofertado as pessoas com segurança (BRASIL, 2004). A amostra foi avaliada quanto a presença de coliformes termotolerantes, onde o resultado pode ser vistos na **Tabela 8**.

Tabela 8 - Análise da qualidade microbiológica do chá de erva cidreira com microcápsulas do extrato de erva cidreira processados segundo as BPF E BPM.

Microrganismo	Contagem	Conformidade
Coliformes termotolerantes	<3NMP/g	Conforme

*NMP: número menos provável. Fonte: Autor, (2020).

Os resultados observados confirmam a eficiência do processo seguindo as boas práticas de fabricação e manipulação, em relação a qualidade microbiológica. Assim sendo, o produto pode ser ofertado as pessoas com segurança. A ausência desse microrganismo é um indicativo da qualidade higiênico-sanitária, bem como da eficiência no controle da contaminação durante todas as etapas do processamento.

Os coliformes fecais são bactérias Gram-negativas, em forma de bacilos, oxidase negativas, que podem fermentar a lactose em 44,5°C e formam colônias quando expostas ao meio de Ágar que é um meio gelatinoso utilizado para formar grânulos de colônias bacterianas (BITTON, 2005; CABRAL, 2010).

Segundo Marcondes et al., (2010) parte das patologias causadas por produtos para o consumo humano é causada por microrganismos patogênicos transmitidos basicamente pela rota fecal-oral, ou seja, são excretados nas fezes de indivíduos infectados e ingeridos na forma de água ou produto vegetal contaminado. Esses são denominados coliformes fecais, e são indicadores de baixas condições sanitárias, e incluem todas as bactérias aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, gram-negativas, não esporuladas e na forma de bastonete, que fermentam a lactose com formação de gás dentro de 48h a 35°C. Os parasitos encontrados em produtos de origem vegetal englobam diversas espécies de protozoários, helmintos e nematelmintos, cistos de *Entamoeba histolytica*, ovos de *Ancilostomídeos* e larvas filarióides de *Ancilostomídeos* associados à presença de *Entamoeba coli* e *Endolimax nana*, em amostras de alimentos são indicadores de baixas condições sanitárias que suscitam potencial contaminação fecal/ oral (FERNANDES et al., 2015; NERES et al., 2011).

5.6. Análises dos compostos antioxidantes das microcápsulas e do produto final

Foi realizado o processo de microencapsulação do extrato de erva cidreira in natura/infusão e posteriormente analisou-se tanto as microcápsulas produzidas, quanto o produto final após 1 semana de armazenamento, para verificar a preservação dos compostos

para a análise do produto final foi separado a fração líquida e as microcápsulas, obtendo os resultados mostrados nas **Tabelas 9 e 10**.

Tabela 9 - Resultados das análise de antioxidantes por DPPH, FRAP, ABTS da microcápsula e do produto final, infusão com as microcápsulas analisados separadamente.

AMOSTRAS	DPPH	FRAP	ABTS
Microcápsula	3,14±2,05	*	10,31±4,06 ^a
Infusão: fração líquida	11,42±4,97	310,91±31,46	62,68±10,70 ^b
Infusão: microcápsula	*	*	4,54±2,89 ^a

Resultados expressos em média (n=3) ± desvio padrão. Letras distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (p<0,05) – Análise de variância (ANOVA) com teste de Tukey, considerando p<0,05 como diferença estatisticamente significativa. *Valores muito baixos não significativos, abaixo do mínimo da curva estabelecida.

Tabela 10- Resultados das análise de compostos bioativos (fenólicos e flavonoides totais) da microcápsula e do produto final, infusão com as microcápsulas analisados separadamente

AMOSTRAS	FENÓLICOS	FLAVONOIDES
Microcápsula	25,96±2,94 ^c	43,31±5,05
Infusão: fração líquida	260,38±40,55 ^a	33,45±8,27
Infusão: microcápsula	78,46±14,93 ^b	*

Resultados expressos em média (n=3) ± desvio padrão. Letras distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (p<0,05) – Análise de variância (ANOVA) com teste de Tukey, considerando p<0,05 como diferença estatisticamente significativa. EAG = Equivalentes ao ácido gálico; ECAT = Equivalentes à catequina. *Valores muito baixos não significativos, abaixo do mínimo da curva estabelecida.

Pode-se observar nos resultados obtidos que para os valores de DPPH, e ABTS, a microcápsula que após o processamento apresentava valores de 3,14±2,05 % de varredura; 10,31±4,06 % de varredura; após o armazenamento em contato com a infusão de erva cidreira por 1 semana, não apresentou resultados significativos, onde supõe-se que os compostos migraram da microcápsula para a infusão. Para os teores de compostos fenólicos totais, podemos observar que os valores encontrados na microcápsula em contato com a infusão durante 1 semana foram superiores aos da microcápsulas após o processamento, supondo-se que para os compostos fenólicos tenha ocorrido absorção da infusão para a microcápsula. Podemos concluir que o produto final apresentou satisfatórios valores de compostos fenólicos,

flavonóides e antioxidantes, corroborando a literatura que mostra boa quantidade de antioxidantes nas folhas de *Melissa officinalis*, erva cidreira.

Segundo Popova et al. (2016), a erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.) apresentou fortes efeitos antioxidantes, que foram 10 vezes mais fortes que os efeitos antioxidantes da vitamina C e vitamina do complexo B, onde a erva foi investigada para determinar atividade antioxidantes e conteúdo total de carotenóides, ácido L-ascórbico e fenólicos.

No estudo de Capecka et al (2005) foi avaliada a atividade antioxidante de ervas frescas e secas de algumas espécies de *Lamiaceae* como erva cidreira, orégano e hortelã, onde determinou a atividade antioxidante pelo método DPPH, conteúdo de fenólicos totais e carotenóides. A capacidade de eliminar o radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) foi muito alta em quase todas as amostras testadas, superior a 90%. Ambas apresentaram um alto teor de fenólicos totais e o conteúdo de carotenoides estava em um nível semelhante em todas as espécies testadas. Porém pode-se concluir que o processo de secagem causou grandes perdas desses compostos nas análises realizadas, comparando os resultados com as amostras vegetais na sua forma *in natura*

Foi determinada a capacidade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP, conteúdo fenólico total de 36 plantas tradicionalmente consumidas na Espanha como infusão, onde o chá verde apresentou-se como a erva mais antioxidante, seguida do orégano e da erva cidreira, bem como alto conteúdo fenólico (JIMÉNEZ-ZAMORA; DELGADO-ANDRADE; RUFIÁN-HENARES, 2016).

Herrera (2018) analisou a capacidade antioxidante de dezenove diferentes infusões de ervas, altamente consumidas, por diferentes metodologias e avaliando a capacidade antioxidante por quatro métodos e, dentre as ervas analisadas, as infusões de erva-cidreira, chá verde e boldo mostraram maior capacidade antioxidante, tendo os flavonóides, como catequinas, os principais contribuintes para o potencial antioxidante dessas infusões (QUESILLE-VILLALOBOS; TORRICO; RANILLA, 2009), sendo a capacidade antioxidante correlacionada significativamente com o conteúdo de compostos fenólicos totais e flavonóides, mostrando assim que as infusões de ervas utilizando as folhas e flores apresentaram maior conteúdo fenólico que as raízes. Sendo assim, as infusões podem ser consideradas bebidas adequadas validadas para seus compostos bioativos que podem atuar como antioxidantes, promovendo propriedades promotoras da saúde

A atividade antioxidante de diversos extratos de plantas medicinais foram avaliados no estudo de Nicolai (2016) através da análise de DPPH e os resultados mostraram a existência de atividade antioxidantes para todos os extratos analisados, apresentando segunda maior atividade antioxidante o extrato de *M. officinalis*.

Estudos in vitro e in vivo indicaram atividade antioxidante tanto para os extratos de *M. officinalis*, como também para o óleo essencial (BAYAT et al., 2012; ČANADANOVIĆ-BRUNET et al., 2008; CAROCHO et al., 2015; FERREIRA et al., 2006; LÓPEZ et al., 2009; LUÑO et al., 2015; NEDA MIMICA-DUKIC et al., 2004; ZERAATPISHE et al., 2011), associando o benefício do consumo desses compostos naturais com a prevenção e tratamento de diversas doenças.

É evidente que o estresse oxidativo desempenha um papel importante na patogênese de muitas doenças incluindo doenças neurodegenerativas, doenças cardiovasculares, diabetes e vários tipos de (ELNAKISH et al., 2013; MELO et al., 2011; RAINS; JAIN, 2011; SOSA et al., 2013). Em 2011, foi realizado um ensaio clínico para avaliar a capacidade de *M. officinalis* infusão na melhoria do estresse oxidativo na equipe de radiologia e os resultados mostraram uma melhora significativa nos parâmetros analisados a nível plasmático, bem como redução de danos ao DNA plasmático, peroxidação lipídica e atividade da mieloperoxidase (ZERAATPISHE et al., 2011).

No estudo de Martins et al. (2012), avaliou-se a eficácia do extrato aquoso de *M. officinalis*, investigando a redução do estresse oxidativo cerebral induzido por magnésio em ratos, onde mostrou que o extrato aquoso de erva-cidreira tem potentes propriedades neuroprotetoras e antioxidantes, validando sua eficácia na atenuação estresse oxidativo induzido por magnésio no cérebro de ratos.

Após um estudo piloto com extrato de erva-cidreira administrado como uma bebida à base de água, onde confirmou a absorção dos efeitos do ácido rosmarínico no humor e na função cognitiva, foram realizados dois estudos de cruzamento semelhantes, duplo-cegos, controlados por placebo, que avaliaram o humor e os efeitos cognitivos de uma preparação padronizada de *M. officinalis* administrada em formas palatáveis em uma bebida e em um iogurte. Em cada estudo, uma coorte de aspectos auto-avaliados do humor de adultos jovens saudáveis foi medida antes e após uma estrutura multitarefa. Ambos os tratamentos ativos de erva-cidreira foram geralmente associados a melhorias no humor e / ou desempenho cognitivo (SCHOLEY et al., 2014).

Segundo Carochio et al. (2015), analisando as decocções de *M. officinalis*, provaram ser esta uma ótima fonte de ácido rosmarínico, sendo assim um dos compostos responsáveis pelas várias propriedades bioativas atribuídas à erva-cidreira, incluindo efeitos antibacterianos e antioxidantes. A atividade antimicrobiana das decocções analisadas foram observadas contra uma variedade de bactérias e fungos, comprovando a atividade anti-séptica, especialmente contra *P. aeruginosa*, *S. thyphimurium* e *P. funiculosum*. Apresentou também, boa atividade antioxidante, devido à alta capacidade de eliminação de DPPH e redução de radicais livres, colocando as decocções desta planta como um dos mais poderosos antioxidantes testados, apoiando sua ingestão como bebida funcional contra o estresse oxidativo. Como também, apresentou satisfatória atividade contra linhas de células tumorais específicas. Não foi observada hepatotoxicidade para as decocções estudadas, o que favorece seu consumo como bebidas funcionais, devido ao seu sabor agradável.

No que concerne aos valores encontrados das análises de antioxidantes e compostos fenólicos e flavonóides nos estudos, há uma dificuldade para a comparação dos valores que pode ser justificada pelo fato de outros estudos terem utilizado diferentes tipos de solventes para extração, diferentes metodologias ou realizarem o processo de secagem para obtenção do extrato. Já o presente estudo utilizou água como solvente através do método de infusão com a amostra vegetal na sua forma in natura. Além disso, trata-se de plantas cultivadas em países distintos, com condições climáticas e de cultivo diferente, pois são Muitos parâmetros que influenciam a composição da planta, como intensidade de luz, nutriente, temperatura, genótipo da prática cultural, idade da parte da planta e tempo de colheita.

5.7. Análise de espectroscopia na região do infravermelho por transformada nano-Fourier (FTIR)

Foram obtidos os espectros FTIR da amostra vegetal in natura como mostra a **Figura 20**, os espectros para as amostras de microcápsulas do extrato in natura/infusão de erva cidreira podem ser visualizado na **Figura 21** e os espectros do produto final, infusão de erva cidreira com adição das microcápsulas foram obtidos como mostra a **Figura 22**. Na sequência temos o espectro FTIR, com a comparação entre as três amostras no tempo zero, ou seja, após o processamento (**Figura 23**) e no tempo final, após 1 semana de armazenamento, para observação da integridade dos compostos (**Figura 24**), onde foi observado mudanças nas

concentrações da infusão contendo as microcápsulas, mas não, na composição da infusão, mostrando que a infusão contendo as microcápsulas, após uma semana de armazenamento, apresentou maiores valores de transmitância, onde supõe-se que houve migração do compostos da microcápsula para infusão, reiterando com os resultados das análises antioxidantes.

Figura 20 - Espectro FTIR da amostra vegetal de erva Cidreira (*Melissa officinalis* L.) in natura, em duplicata.

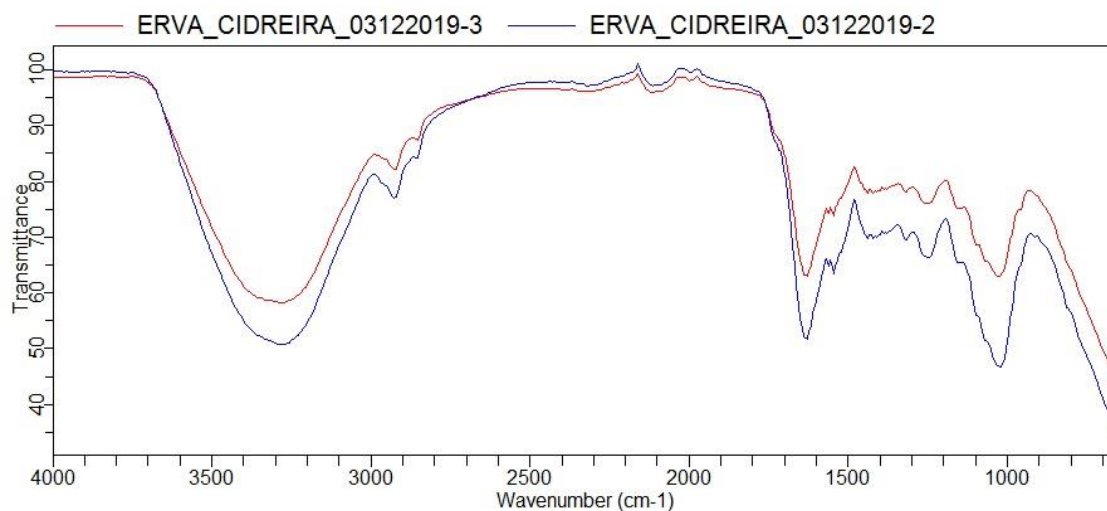


Figura 21 - Espectro FTIR da Microcápsula do extrato in natura/infusão de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) em duplicata.

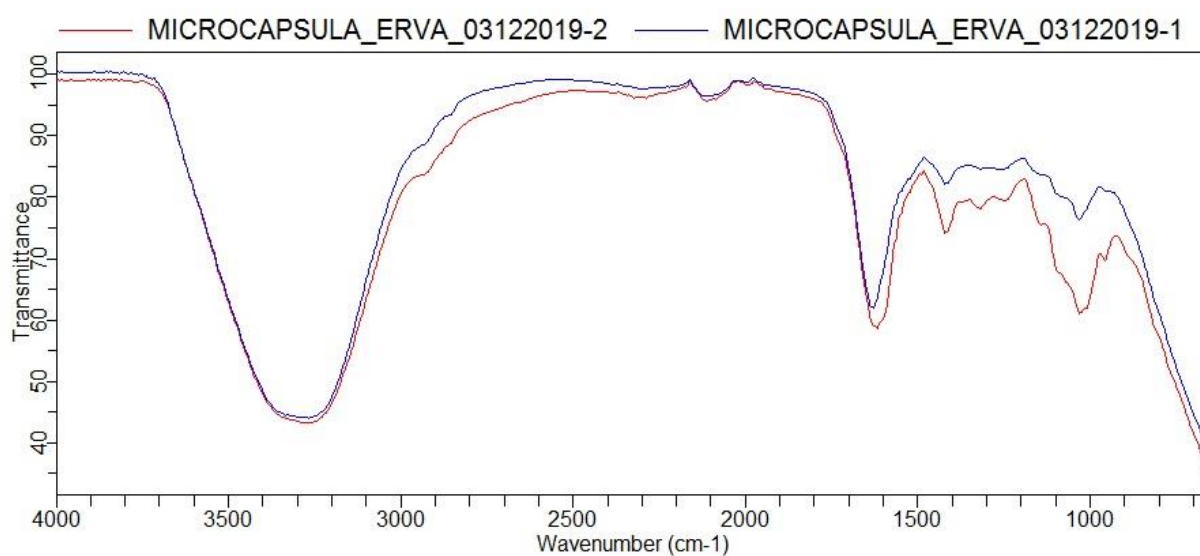


Figura 22 - Espectro FTIR comparando a infusão de erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) no tempo 0 e após 1 semana de armazenamento, em duplicata.

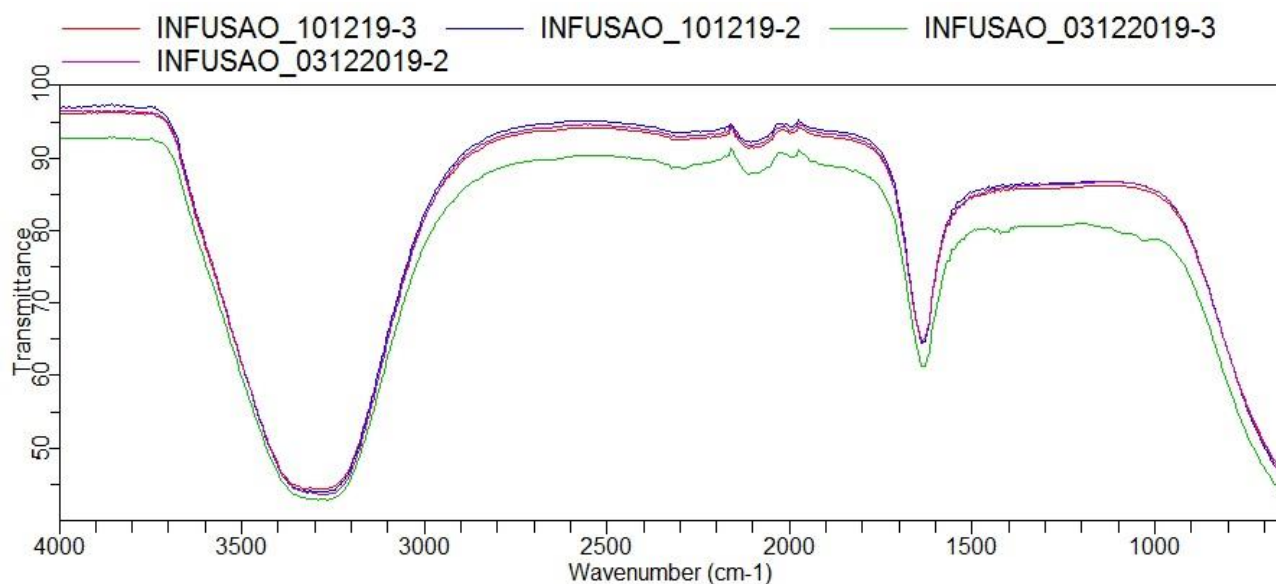


Figura 23 - Espectro FTIR da erva cidreira in natura, da microcápsula e da infusão com microcápsulas no tempo zero.

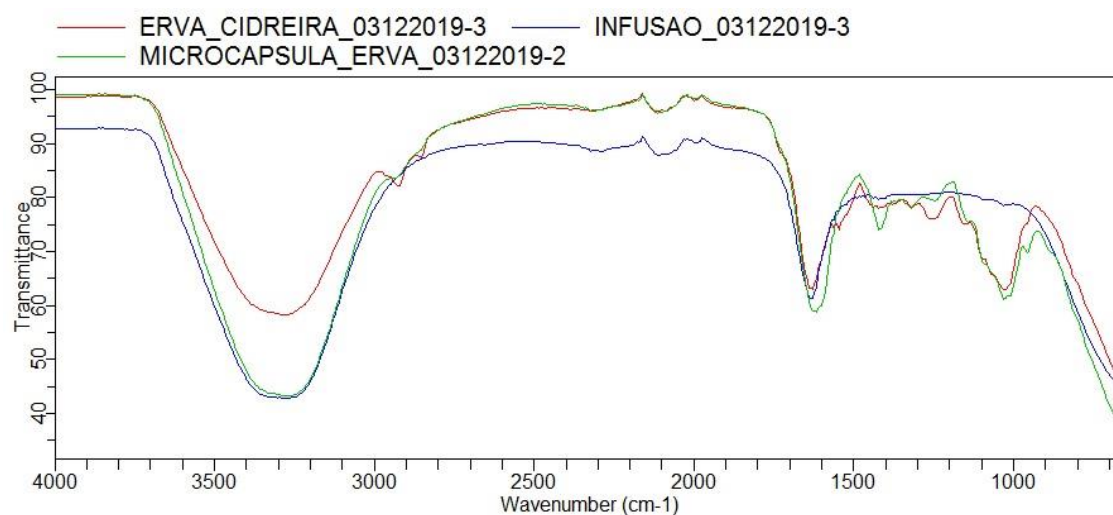
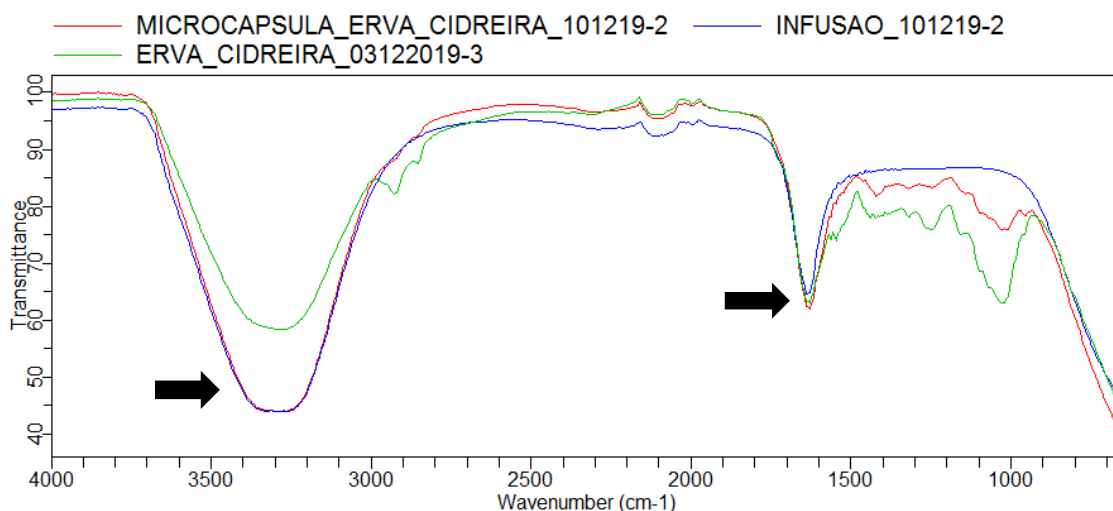


Figura 24 - Espectro FTIR da erva cidreira in natura, da microcápsula e da infusão com microcápsulas após 1 semana de armazenamento.



No que concerne as faixas de variação do número de ondas, as fortes bandas de absorção na faixa de 3000 a 3500 cm^{-1} (primeira seta sinalizada no espectro da **Figura 24**), correspondem para a contribuição conjunta das vibrações de alongamento OH provenientes de diferentes ambientes químicos, o que é característico de extratos polifenólicos (MOHAN KUMAR et al., 2013). As bandas em 2900 cm^{-1} pode corresponder à vibração de alongamento de CH e CH_2 de hidrocarbonetos alifáticos e a faixa de 1700 cm^{-1} pertencentes a carbonila, grupos de ácidos alifáticos saturados dimerizados (VÁZQUEZ et al., 2008). O espectro FTIR, mostram bandas na faixa de 1600 cm^{-1} (segunda seta sinalizada no espectro da **Figura 24**) devido à vibração de alongamento do anel C] C, bandas em torno de 1400 cm^{-1} assemelha-se ao estiramento de C e C (em anel) para aromático, 1300 cm^{-1} para vibração de alongamento C e N para aminas aromáticas e 1000 cm^{-1} para C e N vibração de alongamento de aminas alifáticas que são atribuídas às bandas relacionada a compostos fenólicos (por exemplo, flavonóides e polifenóis) (WANG; HE; CHEN, 2014). A banda em 1200 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento de C e O, possivelmente na presença de ésteres de taninos hidrolisáveis (GRASEL; FERRÃO; WOLF, 2016). Essas bandas sustentam a presença de constituintes fitoquímicos em extratos de folhas de erva cidreira que incluem grupos funcionais como fenóis, aminas, carboxil e carbonil.

O espectro FTIR da espécie *Melissa officinalis* L., foi similar ao espectro FTIR da água pura em suas faixas de números de ondas iniciais, devido a amostra da erva cidreira ter grande concentração de água em sua forma in natura, observado também na microcápsula. Na infusão,

obteve-se menor variação do número de ondas na região fingerprint (faixa de 1500 a 500), podendo ser associado a dois fatores, as substâncias estarem menos concentradas, apresentando-se em maior fase diluída, ou na infusão ocorrer uma baixa extração dos compostos.

Os espectros de FTIR das espécies *Melissa officinalis* e *Nepeta cataria* (*Lamiaceae*) são relatados no estudo de Petenatti (2014), onde foi analisado extrato metanólico e aquoso, e contribuem para a diferenciação entre as espécies, tanto os modos vibracionais quanto os valores reais obtidos para cada um na zona de impressão digital. Portanto, pode-se argumentar que, mesmo no caso de complexos multi-moleculares como este, essas diferenças específicas têm relevância semiquantitativa. Os resultados do espectro FTIR para as amostras de erva cidreira do presente estudo, corroboraram os resultados do espectro FTIR do estudo de Skooti et al. (2014) concluindo assim que a espectroscopia de infravermelho pode ser uma ferramenta útil para a caracterização de *M. officinalis* e *N. cataria*, demonstrando a capacidade do método de encontrar caracteres adicionais aos obtidos por outros métodos farmacognósticos. Além disso, fazendo menção dos dados de FTIR (especialmente na relação CO / CH) aplicados à identificação de amostras dessas duas espécies medicinais.

Os resultados FTIR mostram uma variação no número de ondas onde apresentam determinadas funções orgânicas que corroboram os compostos encontrados na espécie *Melissa officinalis* L. de acordo com a literatura em outras análises, como citados os compostos como o ácido rosmarínico, ácido fenólico, flavonol, triterpenos, ácido gálico, geranial, neral, catequina, luteolina, hesperidina, ácido ursólico, ácido oleanólico (SHAKERI; SAHEBKAR; JAVADI, 2016), citronelal, citral, β -cariofileno, germancreno D, ocimeno e citronelol (LORENZI; MATOS, 2002; SILVA et al., 2005; SIMÕES et al., 2016).

5.8. Análise de compostos voláteis

O aroma e o sabor característico são conferidos aos alimentos pela presença dos compostos voláteis (Bastos *et al.*, 2002). Nas **Tabelas 11 e 12** encontra-se o conteúdo de compostos voláteis presentes nas amostras analisadas. Foram identificados 57 compostos na amostra de erva cidreira in natura e 49 compostos na amostra de microcápsulas do extrato de erva cidreira, tendo compostos como aldeídos, álcoois, terpenos e ésteres, e o composto majoritário em ambas as amostras foi o citral (3,7-dimethyl-2,6-octadienal), que possui como

isômeros geométricos o geranial (cital a ou cital α), de odor mais forte de limão e o neral (cital b ou cital β), de odor mais suave e adocicado.

Tabela 11 - Compostos voláteis encontrados na amostra vegetal de erva cidreira in natura.

	Compostos	IRL_{Lit}	IRL_{Calc.}	Área (%)
1	Acetic acid	646	652	0,05
2	Cyclopentene, 1,5-dimethyl-	706	697	0,18
3	2-Hexenal, (E)-	859	855	0,28
4	1R- α -Pinene	931	939	0,22
5	Oxime-, methoxy-phenyl-	-	945	0,56
6	Benzaldehyde	938	947	0,23
7	6-Methyl-5-hepten-2-one	975	988	2,71
8	3-Carene	1010	1013	0,10
9	β -Terpinene	1036	1026	1,18
10	o-Cymene	1018	1027	6,69
11	β -Phellandrene	1045	1031	0,24
12	β -cis-Ocimene	1039	1034	1,18
13	γ -Terpinene	1062	1057	2,45
14	cis-p-Menth-8-en-1-ol	-	1071	0,44
15	Linalol	1094	1100	1,96
16	3,5-Heptadien-2-ol, 2,6-dimethyl-	-	1119	0,24
17	3-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 1,3,4-trimethyl-	1136	1137	1,42
18	Verbenol	1145	1146	0,21
19	cis-Verbenol	1148	1152	5,50
20	Methyl salicylate	1187	1196	0,85
21	Estragole	1195	1201	0,58
22	5-Octen-2-yn-4-ol	-	1212	16,93
23	cis-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol	1231	1234	0,39
24	β -Citral	1249	1245	21,02
25	Citral	1244	1247	0,64
26	Geraniol	1253	1256	0,09
27	α -Citral	1270	1271	0,07
28	Isogeraniol	1273	1275	0,74
29	2,6-Dimethyl-1-nonen-3-yn-5-ol	1290	1296	2,02
30	4-Terpinenyl acetate	1300	1302	0,12
31	Phenol, 2,3,5,6-tetramethyl-	1319	1322	1,89
32	1,5,5-Trimethyl-6-methylene-cyclohexene	1338	1335	0,11
33	α -Cubebene	1349	1354	0,06
34	Eugenol	1359	1360	0,07
35	Nerol acetate	1368	1369	0,36
36	α -Copaene	1372	1376	0,76

37	β -Cubebene	1388	1387	0,32
38	Geranyl acetate	1383	1389	0,18
39	(-)- β -Bourbonene	1384	1391	0,63
40	Methyleugenol	1410	1408	12,59
41	Caryophyllene	1415	1417	0,45
42	β -copaene	1428	1432	0,09
43	Elixene	1445	1441	0,26
44	Humulene	1456	1463	0,97
45	Alloaromadendrene	1467	1471	0,33
48	γ -Murolene	1477	1480	2,28
49	α -Murolene	1499	1505	0,49
50	δ -Cadinene	1523	1527	0,25
51	γ -Cadinene	1524	1530	0,76
52	Geranyl butyrate	1534	1536	0,17
53	Calamenene	1557	1543	0,16
54	(\pm)-trans-Nerolidol	1567	1570	2,45
55	Caryophyllene oxide	1578	1583	3,52
56	Alloaromadendrene oxide-(1)	1631	1641	0,81
56	Cedren-13-ol, 8-	1689	1692	0,81
57	Pentadecanal-	1713	1715	0,09

- Não foram encontrados Índices de Retenção na literatura desse composto.

IRL_{Lit} - Índice de retenção da literatura.

IRL_{Calc.} - Índice de retenção calculado.

Tabela 12 - Compostos voláteis encontrados nas microcápsulas do extrato de erva cidreira.

	Compostos	IRL_{Lit}	IRL_{Calc.}	Area (%)
1	Acetic acid	646	655	0,09
2	Oxime-, methoxy-phenyl-	-	945	0,60
3	6-Methyl-5-hepten-2-one	975	988	0,46
4	3-Carene	1010	1013	0,18
5	o-Cymene	1018	1027	0,51
6	β -cis-Ocimene	1039	1034	0,09
7	γ -Terpinene	1062	1057	0,14
8	cis-p-Menth-8-en-1-ol	-	1071	0,01
9	2,2-Dimethylocta-3,4-dienal	1098	1105	0,05
10	2-Pinen-7-one	1121	1126	1,04
11	Verbenol	1145	1146	0,06
12	cis-Verbenol	1148	1153	0,12
13	Citronellal	1158	1157	1,30
14	2-Isopropylidene-3-methylhexa-3,5-dienal	1164	1167	0,17

15	D-Verbenone	1170	1173	0,40
16	Estragole	1195	1201	0,10
17	Safranal	1207	1218	0,12
18	trans-Carveol	1217	1220	0,57
19	cis-Carveol	1229	1230	0,23
20	cis-Geraniol	1230	1239	15,69
21	Citronellol	1245	1240	0,65
22	β -Citral	1249	1245	27,54
23	Citral	1244	1247	0,03
24	Geraniol	1253	1256	0,06
25	α -Citral	1270	1271	0,15
26	5-Isopropenyl-2-methylcyclopent-1-enecarboxaldehyde	1271	1273	0,20
27	2,6-Dimethyl-1-nonen-3-yn-5-ol	1290	1296	2,29
28	1,5,5-Trimethyl-6-methylene-cyclohexene	1338	1335	0,12
29	Eugenol	1359	1360	1,56
30	Nerol acetate	1366	1369	0,19
31	α -Copaene	1372	1376	0,06
32	(-)-cis-Carane	-	1378	0,23
33	β -Cubebene	1388	1387	1,04
34	Geranyl acetate	1383	1389	0,86
35	3,5-Heptadienal, 2-ethylidene-6-methyl-	1395	1398	0,20
36	2,4,6-Trimethylbenzyl alcohol	-	1401	0,42
37	Caryophyllene	1415	1417	0,13
38	Humulene	1454	1456	0,30
39	1-Dodecanol	1469	1466	0,50
40	β -Ionone	1493	1486	0,81
41	γ -Cadinene	1511	1513	1,38
42	(-)- β -Cadinene	1517	1520	7,87
43	β -Vatirenene	1527	1540	4,81
44	Isolongifolene, 9,10-dehydro-	-	1543	0,11
45	Geraniol butyrate	1565	1562	0,37
48	(\pm)-trans-Nerolidol	1567	1571	20,47
49	Caryophyllene epoxide	1578	1583	5,66

- Não foram encontrados Índices de Retenção na literatura desse composto.

IRL_{Lit} - Índice de retenção da literatura.

IRL_{Calc.} - Índice de retenção calculado.

É possível observar grande semelhança dos compostos encontrados nas duas amostras analisadas. Os principais compostos encontrados na erva cidreira in natura foram citral (21,02%), 5-Octen-2-yn-4-ol (16,93%) e methyleugenol (12,59%) e os principais compostos

encontrados nas microcápsulas do extrato de erva cidreira foram o citral (27,54%), trans-Nerolidol (20,47%), cis-Geraniol (15,69%).

Na composição de voláteis, foram encontrados em maiores quantidades o componente citral nas folhas de erva cidreira (21,02%) e nas microcápsulas do extrato de erva cidreira (27,54%), observando maior valor encontrado nas microcápsulas após o processo de microencapsulação, mostrando assim, que a microencapsulação manteve a estabilidade de um dos principais compostos presentes na erva cidreira.

Nas análises da composição química da erva cidreira e das microcápsulas, como compostos voláteis e análise FTIR, foram encontrados alguns compostos como o geranial, neral, citronelal, citral, β -cariofileno, ocimeno e citronelol, assim como os estudos de Shakeri, Sahebkar e Javadi (2016) que encontraram componentes químicos como geranial, neral, e Lorenzi e Matos (2002); Silva et al (2005) e Simões et al (2016) encontraram os compostos citronelal, citral, β -cariofileno, germacreno D, ocimeno e citronelol.

Os resultados do presente estudo corroboram os encontrados no estudo que investigou os efeitos de diferentes estágios de colheita no rendimento e características da qualidade da erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.), que obteve como principal constituinte do óleo essencial, o citral, onde variou entre 25,90 a 37,74% obtendo-se maior teor no estágio de florescência da planta (AVCI e GIACHINO, 2016). Valores aproximados também foram encontrados por Rehman (2017), onde obteve-se o valor de 19,6% de citral como os principais constituintes do óleo essencial de melissa analisado por cromatografia gasosa (GC-MS).

Foi realizada análise da composição química por hidro-destilação e analisada por GC/MS e GC-FID do óleo essencial obtido das folhas de *Melissa officinalis* L. em crescimento na Argélia e o principal componente encontrado foi geranial, 44,20%, e outros componentes predominantes foram neral, 30,20% e citronelal 6,30% (ABDELLATIF *et al.*, 2014). Em outro recente estudo, as composições químicas do óleo essencial da *Melissa officinalis* também foram analisadas usando cromatografia gasosa e espectrometria (GC-MS), onde as principais composições incluíram geranyl acetate (27,9%), citral (14,2%), Z-citral (9,8%) citronelal (8,4%) e citronelol (7,6%), (Alizadeh Behbahani e Shahidi, 2019).

Stojanovic et al. (2019), encontraram compostos semelhantes ao presente estudo na composição química da erva cidreira, porém alguns valores menores, com composição química predominantemente de monoterpenos aldeídos, citronelal (21,2 a 21,8%), neral (17,8 a 18,4%) e geranial (22,9 a 23,5%).

Em um estudo utilizando brotos micropropagados de erva-cidreira induzidos in vitro, os principais componentes determinados por GC/ FID e GC/MS foram o geranial (43,4-44,8%), neral (26,8-30,3%) (MOKHTARZADEH *et al.*, 2017).

No estudo de Silva et al. (2018), onde analisou a composição do óleo essencial de melissa em monocultivo e consorciado com mil folhas, em Minas Gerais, a natureza química dos constituintes de erva-cidreira eram principalmente monoterpenos neral (29,68 -27,29%) e geraniol (41,04 - 38,03%) independentemente de sistema de cultivo.

Um estudo realizado na região sul da Bósnia e Herzegovina, determinou os principais constituintes do óleo essencial de *M. officinalis*, e obteve-se valores maiores de citral (47,2%), óxido de cariofileno (10,2%), geraniol (6,6%), e acetato de geranil (4, 1%) (Niksic *et al.*, 2019). Khalid et al.(2008) encontraram 43 componentes de óleos essenciais de *M. officinalis* cujos componentes principais foram citronelal, citronelol e acetato de geranil. Da mesma forma, Sodré et al. (2011) encontraram o neral, geranial e citronelal como principais constituintes e Taherpour et al. (2012) observaram citral (37,2%), neral (23,9%) e citronelal (20,3%) como os principais constituintes do óleo essencial de melissa *officinalis*.

São encontrados na literatura basicamente os mesmos compostos do presente estudo, mostrando compatibilidade parcial ou total, com os diversos estudos analisados, onde as variações nas quantidades dos compostos e na composição no óleo essencial podem resultar de diferenças nas condições climáticas, sazonais e geográficas, época da colheita e detalhes processuais da técnica aplicada (SHAKERI, SAHEBKAR e JAVADI, 2016).

O citral é um componente essencial dos óleos essenciais extraídos da erva-cidreira (*melissa officinalis*) com efeito antiproliferativo em várias linhas celulares de leucemia (P388, NB4, MOLT-4) através da indução de apoptose (Xia *et al.*, 2013). Um recente estudo demonstrou que o citral inibiu a proliferação de células de câncer de mama in vitro (células humanas de câncer de mama MDA MBA-231), principalmente pela indução de apoptose, antimet stase, potenciais antiangiog nicos e redução do peso e tamanho do tumor, sem alterar os efeitos terapêuticos do citral (Nordin *et al.*, 2019). Outro estudo demonstrou que o citral inibe a níveis intracelulares os radicais de oxig nio e, conseqüentemente, pela modulação do equilíbrio oxidativo celular, leva à redução da proliferação de células cancerígenas (KAPUR *et al.*, 2016; SANCHES *et al.*, 2017). O citral demonstrou induzir a ativação da caspase e subsequente indução de apoptose em vários tipos de células cancerígenas, incluindo câncer

colorretal e glioblastoma (DUDAI *et al.*, 2005; QUEIROZ, DE *et al.*, 2014; SHEIKH *et al.*, 2017).

A presença de terpenos nas amostras também desempenha papel importante nas percepções aromáticas, conferindo a erva cidreira características sensoriais agradáveis, tais como aroma adocicado, frutado e cítrico (BRAHIM, BEN *et al.*, 2018; SOTO *et al.*, 2019; ZHOU *et al.*, 2019).

No entanto podemos observar semelhanças entre os compostos químicos encontrados nas amostras de erva cidreira na sua forma in natura como também na sua forma microencapsulado, mostrando assim, que esse processamento apresentou uma boa estabilidade dos compostos químicos, onde o encapsulante é capaz de formar uma cobertura de alta barreira a compostos orgânicos, promovendo boa retenção de voláteis e protegendo o núcleo contra a ação do oxigênio atmosférico, indicando assim que as técnicas de microencapsulação podem proteger os compostos bioativos apresentando um alto potencial para expandir mercados de produtos de alto valor agregado.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo avaliou a composição química de uma das ervas mais consumidas entre a população, a *Melissa officinalis*, erva cidreira, e identificou o melhor tipo de extrato para o processo de microencapsulação. Dentre os extratos analisados, foi definido, o extrato obtido da amostra vegetal in natura em infusão à 80°C, como melhor forma de extração dos compostos bioativos, onde a proteção desses compostos foi eficaz após o processo de microencapsulação por gelificação iônica do extrato, a fim de assegurar a estabilidade no trato gastrointestinal e permitir uma liberação controlada no alvo apropriado. Obteve-se como produto final, a infusão de erva cidreira contendo microcápsulas do extrato de erva cidreira, a fim de propiciar um melhor meio para conservação das microcápsulas e facilitar a forma de consumo pela população.

Os resultados FTIR mostraram determinados compostos encontrados em ambas as amostras analisadas, como o ácido rosmarínico, ácido fenólico, flavonol, triterpeno, ácido gálico, geranial, neral, catequina, luteolina, hesperidina, ácido ursólico, ácido oleanólico, citronelal, citral, β -cariofileno, germacreno D, ocimeno e citronelol, sem grandes diferenças na composição química, evidenciando a eficácia da microencapsulação na preservação desses compostos. No que tange aos compostos voláteis, foi identificado o citral, como substância majoritária tanto na amostra de erva cidreira in natura como nas microcápsulas, apresentando resultados satisfatórios na preservação dos compostos voláteis pelo processo de microencapsulação por gelificação iônica.

7 REFERÊNCIAS

- ABDEL-NAIME, W. A. et al. New antimicrobial triterpene glycosides from lemon balm (*Melissa officinalis*). **South African Journal of Botany**, v. 125, p. 161–167, 1 set. 2019.
- ABDELLATIF, F.; BOUDJELLA, H.; ZITOUNI, A.; HASSANI, A. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of Algerian *Melissa officinalis* L. **EXCLI Journal**, v. 13, p. 772–781, 17 jul. 2014.
- AGHAKHANI, F.; KHARAZIAN, N.; LORI GOOINI, Z. Flavonoid Constituents of *Phlomis* (Lamiaceae) Species Using Liquid Chromatography Mass Spectrometry. **Phytochemical Analysis**, v. 29, n. 2, p. 180–195, mar. 2018.
- AGUILERA, J. M. Solid-Liquid Extraction. p. 51–70, 21 jul. 2003.
- ALCANTARA JR, P. **Espectroscopia molecular. Curso física moderna**, 2002. Disponível em:
https://www.google.com/search?rlz=1C1GGRV_enBR751BR751&sxsrf=ALeKk02Xa_BN_bnkU-uiMcfqe6Nx8vKTCg%3A1584147577238&ei=eSxsXqeSDp-_5OUP35CTuA0&q=Alcantara+Espectroscopia+molecular.+Curso+física+moderna&oq=Alcantara+Espectroscopia+molecular.+Curso+fí>. Acesso em: 13 mar. 2020
- ALIZADEH BEHBAHANI, B.; SHAHIDI, F. *Melissa officinalis* Essential Oil: Chemical Compositions, Antioxidant Potential, Total Phenolic Content and Antimicrobial Activity. **Nutrition and Food Sciences Research**, v. 6, n. 1, p. 17–25, 1 jan. 2019.
- ALMEIDA, A. et al. Study of the process of getting the drops of papaya (*carica papaya* l.) Per basic spherification. **International Journal of Engineering and Innovative Technology** (, v. 4, n. 6, p. 1–9, 2014.
- ALVARENGA BOTREL, D. et al. Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 11, p. 2289–2296, 1 nov. 2012.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.

ANBINDER, P. S. et al. Yerba Mate Extract Encapsulation with Alginate and Chitosan Systems: Interactions between Active Compound Encapsulation Polymers. **Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences**, v. 01, n. 04, p. 80–87, 9 dez. 2011.

ANDRADE, Sonja de França; NASCIMENTO, Ramon Souza; CARVALHO, Filipe Araújo De; SANTOS, Ariadne Matos Dos; PAGANI, Alessandra Almeida Castro. Microencapsulação de cúrcuma longa (Açafrão) pelo método de gelificação iônica, agregando valor ao vinagre de álcool / Microencapsulation of long curcuma (Saffron) by the ionic gelation method, adding value to alcohol vinegar. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 6, n. 3, p. 12387–12398, 2020. DOI: 10.34117/BJDV6N3-195.

ANSON, R. **Microencapsulation: For enhanced textile performance**. 12. ed. [s.l: s.n.].

ARANHA, C. P. M. **Microencapsulação por gelificação iônica e interação eletrostática do corante de buriti (Mauritia flexuosa L. f.)**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista (UNESP), 4 maio 2015.

ARRIOLA, Nathalia Darminia Aceval. **Encapsulação por extrusão através da gelificação iônica do extrato aquoso de folhas de estévia (Stevia rebaudiana Bertoni) com alginato de sódio: caracterização física e impacto na composição fenólica**. 2017. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

ARUMUGAM, G.; SWAMY, M.; SINNIHA, U. Plectranthus amboinicus (Lour.) Spreng: Botanical, Phytochemical, Pharmacological and Nutritional Significance. **Molecules**, v. 21, n. 4, p. 369, 30 mar. 2016.

ASIMI, O. A.; SAHU, N. P.; PAL, A. K. Antioxidant capacity of crude water and ethyl acetate extracts of some Indian spices and their antimicrobial activity against *Vibrio vulnificus* and *Micrococcus luteus*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 26, p. 1907–1915, 10 jul. 2013.

ASSUNÇÃO, L. et al. Estudo prospectivo sobre encapsulamento de compostos bioativos. **Revista GEINTEC - Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 4, n. 4, p. 1382–1391, 2 dez. 2014.

ATANASSOVA, M.; GEORGIEVA, S.; IVANCHEVA, K. Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. **Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy**, v. 46, n. 1, p. 81–88, 2011.

AVCI, A. B.; GIACHINO, R. R. A. Harvest stage effects on some yield and quality characteristics of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 88, p. 23–27, 15 out. 2016.

BAHTIYARCA BAGDAT, R. THE ESSENTIAL OIL OF LEMON BALM (*Melissa officinalis* L.), ITS COMPONENTS AND USING FIELDS. **Journal of Faculty of Agriculture**, v. 21, p. 116–121, 2006.

BAKER, M. J. et al. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. **Nature Protocols**, v. 9, n. 8, p. 1771–1791, 3 ago. 2014.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, 1 jan. 2006.

BALDUÍNO, M. A. **Aplicação da metodologia de Engenharia Kansei na análise de consumo de chás**. [s.l.] Universidade do Porto, 18 jan. 2013.

BALLESTEROS, L. F. et al. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food Chemistry**, v. 237, p. 623–631, 15 dez. 2017.

BANSODE, S. S. et al. Microencapsulation: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 1, n. 2, p. 38–43, 2010.

BASTOS, D. H. M.; FRANCO, M. R. B.; SILVA, M. A. A. P. DA; JANZANTTI, N. S.; MARQUES, M. O. M. Composição de voláteis e perfil de aroma e sabor de méis de eucalipto e laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 122–129, ago. 2002.

BAQUEIRO-PEÑA, I.; GUERRERO-BELTRÁN, J. Á. Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*. **Food Chemistry**, v. 218, p. 305–312, 1 mar. 2017.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, fev. 2006.

BARROS, L. et al. Phenolic profiles of cultivated, in vitro cultured and commercial samples of *Melissa officinalis* L. infusions. **Food Chemistry**, v. 136, n. 1, p. 1–8, 1 jan. 2013.

BARROSO, M. F. et al. Total antioxidant capacity of plant infusions: Assessment using electrochemical DNA-based biosensor and spectrophotometric methods. **Food Control**, v. 68, p. 153–161, 1 out. 2016.

BASAR, S. N.; ZAMAN, R. An Overview of Badranjboya (*Melissa officinalis*). **International Research Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 12, p. 107–109, 2013.

BATISTA, G. DE A. P. et al. Estudo prospectivo, duplo cego e cruzado da *Camellia sinensis* (chá verde) nas dislipidemias. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 93, n. 2, p. 128–134, ago. 2009.

BAYAT, M. et al. Neuroprotective properties of *Melissa officinalis* after hypoxic-ischemic injury both in vitro and in vivo. **Daru : journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences**, v. 20, n. 1, p. 42, 3 out. 2012.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, 15 jul. 1996.

BERNARDES, A. O. **Educação Pública - Pesquisa na escola: Utilização de plantas medicinais pela comunidade escolar.** Disponível em: <<http://www.educacaopublica.rj.gov.br/suavoz/0149.html>>. Acesso em: 13 mar. 2020.

BEUCHAT, L. R. Microbial stability as affected by water activity. **Cereal Foods World**, v. 26, n. 7, p. 345–349, 1981.

BIRDANE, Y. O. et al. Anti-inflammatory and Antinociceptive Effects of *Melissa Officinalis* L. in Rodents. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 2, p. 75–81, 2007.

BITTON, G. **Microbial indicators of fecal contamination: application to microbial.** Gainesville: [s.n.]. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/908c/dc8c238477dc4317c0286d799702a4b4044d.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2020.

BLANK, A. F. et al. Produção de mudas, altura e intervalo de corte em melissa. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 780–784, jul. 2005.

BLOIS, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v. 181,

n. 4617, p. 1199–1200, abr. 1958.

BORDOLOI, M. et al. Studies on some edible herbs: Antioxidant activity, phenolic content, mineral content and antifungal properties. **Journal of Functional Foods**, v. 23, p. 220–229, 1 maio 2016.

BORGES, A. M. et al. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 656–665, 2012.

BORGES, D. B. et al. Comparação das metodologias da Farmacopéia Brasileira para determinação de água em matérias-primas vegetais, e validação da determinação de água em analisador de umidade para *Calendula officinalis* L., *Foeniculum vulgare* Miller, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek e *Passiflora alata* Curtis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 229–236, set. 2005.

BOROSKI, M. et al. **Antioxidantes: PRINCIPIOS E METODOS ANALITICOS**. 1. ed. [s.l: s.n.].

BRAHIM, S. BEN; AMANPOUR, A.; CHTOUROU, F.; KELEBEK, H.; SELLI, S.; BOUAZIZ, M. Gas Chromatography-Mass Spectrometry-Olfactometry to Control the Aroma Fingerprint of Extra Virgin Olive Oil from Three Tunisian Cultivars at Three Harvest Times. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 11, p. 2851–2861, 21 mar. 2018.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1 jan. 1995.

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B8994-1-0%5D.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2017.

BRASIL. **RDC N° 26, DE 13 DE MAIO DE 2014** Anvisa-Agência Nacional de Vigilância Sanitária, , 2014. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf>. Acesso em: 13 mar. 2020

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional

Significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317–333, 27 abr. 2009.

BROOKER, D. B.; BAKKER-ARKEMA, F. W.; HALL, C. W. **Drying and storage of grains and oilseeds**. [s.l.] Van Nostrand Reinhold, 1992.

BUREY, P. et al. Hydrocolloid Gel Particles: Formation, Characterization, and Application. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 5, p. 361–377, 8 maio 2008.

BURGAIN, J. et al. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n. 4, p. 467–483, 1 jun. 2011.

CABRAL, J. P. S. Water microbiology. Bacterial pathogens and water. **International journal of environmental research and public health**, v. 7, n. 10, p. 3657–703, 2010.

CAMARGO, L. E. A. et al. Antioxidant and antifungal activities of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze leaves obtained by different forms of production. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 2, p. 428–434, 15 mar. 2016.

CAMPBELL-PLATT, G. **Food science and technology**. [s.l.: s.n.].

ČANADANOVIĆ-BRUNET, J. et al. Radical Scavenging, Antibacterial, and Antiproliferative Activities of *Melissa officinalis* L. Extracts. **Journal of Medicinal Food**, v. 11, n. 1, p. 133–143, mar. 2008.

CANÇADO, P. A. A revanche do vidro. **Isto É Dinheiro**, 22 out. 2003.

CAO, H. et al. Microbial biotransformation of bioactive flavonoids. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 1, p. 214–223, 1 jan. 2015.

CAPECKA, E.; MARECZEK, A.; LEJA, M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. **Food Chemistry**, v. 93, n. 2, p. 223–226, 1 nov. 2005.

CARBONELL-CAPELLA, J. M. et al. Quality parameters, bioactive compounds and their correlation with antioxidant capacity of commercial fruit-based baby foods. **Food Science and Technology International**, v. 20, n. 7, p. 479–487, 21 out. 2014.

CARMO, E. L.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V. Encapsulação por spray drying, novos biopolímeros e aplicações na tecnologia de alimentos. **Journal of Chemical Engineering and Chemistry Revista de Engenharia Química e Química**, v. 1, n. 2, p. 30–44, 2015.

CAROCHO, M. et al. Melissa officinalis L. decoctions as functional beverages: a bioactive approach and chemical characterization. **Food & function**, v. 6, n. 7, p. 2240–8, jul. 2015.

CARVALHO, L. M. DE. **Orientações técnicas para o cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares.** - Portal Embrapa. Aracaju: [s.n.]. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1028982/orientacoes-tecnicas-para-o-cultivo-de-plantas-medicinais-aromaticas-e-condimentares>>. Acesso em: 7 mar. 2020.

CASTELLUCCI, S. ET AL. Plantas medicinais relatadas pela comunidade residente na Estação Ecológica de Jataí, município de Luís Antonio – SP: uma abordagem etnobotânica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 3, n. 1, p. 51–60, 2000.

CEAGESP. **A medida de doçura das frutas. Cartilha técnica 08.** São Paulo: [s.n.]. Disponível em: <https://www.google.com/search?rlz=1C1GGRV_enBR751BR751&sxsrf=ALeKk00ThdgJI_NmOBjmATD72Et9zDJrPQ%3A1584147108079&ei=pCpsXoWqBM2i5OUPxJ6NuAM&q=ceagesp+cartilha+técnica+8+A+medida+de+doçura+das+frutas&oq=ceagesp+cartilha+técnica+8+A+medida+de+>>. Acesso em: 13 mar. 2020.

CECCHI, H. M. **FUNDAMENTOS TEORICOS E PRATICOS EM ANALISE DE ALIMENTOS.** Campinas: SCIELO - EDITORA DA UNICA, 2003.

CHAICOUSKI, A. et al. Análise de cor, atividade de água e sólidos solúveis totais em extratos de erva-mate ((*ilex paraguariensis*)). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 16, n. 1, p. 43–49, 2014.

CHAN, E.-S. et al. Encapsulation of herbal aqueous extract through absorption with ca-alginate hydrogel beads. **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, n. 2–3, p. 195–201, 1 jun. 2010.

CHUNG, M. J. et al. Anti-diabetic effects of lemon balm (*Melissa officinalis*) essential oil on glucose- and lipid-regulating enzymes in type 2 diabetic mice. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. 2, p. 180–188, 28 jul. 2010.

COBLEY, J. N.; FIORELLO, M. L.; BAILEY, D. M. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. **Redox Biology**, v. 15, p. 490–503, maio 2018.

COBRA, M. Administração de marketing no Brasil. v. 21, n. 0, 18 jan. 2009.

CONDE, E. E. C.; GARCÍA-VALLEJO, M. C.; SIMÓN, B. F. DE. Polyphenolic Composition of *Quercus suber* Cork from Different Spanish Provenances. 1998.

COOK, M. T. et al. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 162, n. 1, p. 56–67, 20 ago. 2012.

CORREA, R. M. Preparo e caracterização de microcapsulas obtidas por polimerização ionica para alimentação de larvas de peixe. 2003.

CORREIA, R. T. et al. Bioactive compounds and phenolic-linked functionality of powdered tropical fruit residues. **Food Science and Technology International**, v. 18, n. 6, p. 539–547, 26 dez. 2012.

COSTA DE SOUZA, N. C., DE BRITO, M. F. F., EVANGELISTA, L. C., EVANGELISTA, L. C., DE MOURA, I. R., & MARQUES DA SILVA, M. D. J. (2012). AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS FOLHAS DA *Lavandula officinalis*. In *VII CONNEPI-Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação*.

CREPALDI, L. A influência das cores na decisão de compra: Um estudo do comportamento do consumidor no ABC paulista. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DA COMUNICAÇÃO. **Anais**, v. 29, p. 1–11, 2006.

CUNHA, F. et al. HPLC-DAD phenolic profile, cytotoxic and anti-kinetoplastidae activity of *Melissa officinalis*. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 9, p. 1664–1670, 10 set. 2016.

DASTMALCHI, K. et al. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 3, p. 391–400, 1 abr. 2008.

DAY, L. et al. Incorporation of functional ingredients into foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 9, p. 388–395, 1 set. 2009.

DE-LA-CRUZ, M. G. F. **Plantas medicinais utilizadas por raizeiros: uma abordagem etnobotânica no contexto da saúde e doença**. Cuiabá, Mato Grosso. [s.l.] Universidade Federal de Mato Grosso, 1997.

DECKER, E. A. **Trends in food science & technology**. [s.l.] Elsevier Science, 1998. v.

DELLA LUCIA, S. M. et al. Impacto de características sensoriais e não sensoriais na escolha e na aceitação de iogurte sabor morango. **Agropecuária Técnica**, v. 36, n. 1, p. 103–108, 2010.

DERMARDEROSIAN, A.; BEUTLER, J. A. **Complementary and alternative medicine for older adults : a guide to holistic approaches to healthy aging**. [s.l.: s.n.].

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais : arte e ciência : um guia de estudo interdisciplinar**. 1. ed. [s.l.] Editora Unesp Fundação, 1995.

DIAS, M. I. et al. Systematic comparison of nutraceuticals and antioxidant potential of cultivated, in vitro cultured and commercial *Melissa officinalis* samples. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 6, p. 1866–1873, jun. 2012.

DIAS, M. I. et al. Minerals and vitamin B9 in dried plants vs. infusions: Assessing absorption dynamics of minerals by membrane dialysis tandem in vitro digestion. **Food Bioscience**, v. 13, p. 9–14, 1 mar. 2016.

DIMITRIS, D. et al. *Melissa officinalis* ssp. *altissima* extracts: A therapeutic approach targeting psoriasis in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 246, p. 112208, 10 jan. 2020.

DORĐEVIĆ, V. et al. Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. **Food Engineering Reviews**, v. 7, n. 4, p. 452–490, 25 dez. 2015.

DOWNES, F. P. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association, 2015.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446–452, jun. 2006.

DUDA, S. C. et al. Changes in major bioactive compounds with antioxidant activity of *Agastache foeniculum*, *Lavandula angustifolia*, *Melissa officinalis* and *Nepeta cataria*: Effect of harvest time and plant species. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 499–507, 23 dez. 2015.

DUDAI, N.; WEINSTEIN, Y.; KRUP, M.; RABINSKI, T.; OFIR, R. Citral is a new inducer of caspase-3 in tumor cell lines. **Planta Medica**, v. 71, n. 5, p. 484–488, 1 maio 2005.

ELNAKISH, M. T. et al. Emerging role of oxidative stress in metabolic syndrome and cardiovascular diseases: important role of Rac/NADPH oxidase. **The Journal of Pathology**, v. 231, n. 3, p. 290–300, nov. 2013.

FALCONE FERREYRA, M. L.; RIUS, S. P.; CASATI, P. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. **Frontiers in Plant Science**, v. 3, p. 222, 2012.

FAO. **Crop Prospects and Food Situation | GIEWS - Global Information and Early Warning System | Food and Agriculture Organization of the United Nations**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.fao.org/giews/reports/crop-prospects/en>>. Acesso em: 5 mar. 2020.

FARIAS, M. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 2. ed. 2004: [s.n.].

FARVIN, S.; ALARGASAMY, S. Plant Antioxidant Extracts: Effect on Lipid or Protein Oxidation in Seafood Products. In: **Encyclopedia of Food Chemistry**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 2194.

FAVARO-TRINDADE, C.; PINHO, S.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 3, p. 103–109, 2008.

FECKA, I.; TUREK, S. Determination of Water-Soluble Polyphenolic Compounds in Commercial Herbal Teas from Lamiaceae: Peppermint, Melissa, and Sage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 26, p. 10908–10917, 26 dez. 2007.

FEMENIA, A. et al. Developmental and ripening-related effects on the cell wall of apricot (*Prunus armeniaca*) fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, n. 4, p. 487–493, 1 ago. 1998.

FERRÃO, Tíssiana Santos. **Compostos voláteis e parâmetros de qualidade de diferentes genótipos de frutos de Butia Odorata**. 2012. 92p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2012.

FERNANDES, K. C. et al. CONTAMINAÇÃO POR ENTEROPARASITOS EM VERDURAS DE SUPERMERCADOS E FEIRAS DE UMUARAMA - PR1. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 17, n. 2, 20 mar. 2015.

FERNANDES, R. V. DE B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Influence of spray drying operating conditions on microencapsulated rosemary essential oil properties. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, p. 171–178, fev. 2013.

FERREIRA, A. et al. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, n. 1, p. 31–37, 3 nov. 2006.

FERRERA, T. S. et al. Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em ervaíras sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2 suppl 1, p. 588–596, 2016.

FRANCISCO CASTAÑÓN-RODRÍGUEZ, Juan; GUADALUPE SOTO-GÓMEZ, Maricela; MARGARITA URESTI-MARÍN, Rocío. Evaluation of the stability of orange juice capsules obtained by ionic gelation Evaluación de la estabilidad de cápsulas de jugo de naranja obtenidas mediante gelificación iónica. **CienciaUAT**, [S. l.], v. 117, n. 2, p. 117–132, 2020. DOI: 10.29059/cienciauat.v14i2.1285.

FRAZIER, R. A. **Food chemistry – water in foods**. [s.l.: s.n.]. v. 16

FREITAS, A. V. L. et al. Diversidade e usos de plantas medicinais nos quintais da comunidade de São João da Várzea em Mossoró, RN. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4 suppl 2, p. 845–856, 2015.

FURLAN, M. R. **Cultivo de Plantas Mediciniais**. 13. ed. Cuiabá: SEBRAE, 1998.

GALANAKIS, C. M. et al. A Knowledge Base for The Recovery of Natural Phenols with Different Solvents. **International Journal of Food Properties**, v. 16, n. 2, p. 382–396, jan. 2013.

GALANAKIS, C. M.; FOUNTOULIS, G.; GEKAS, V. Nanofiltration of brackish groundwater by using a polypiperazine membrane. **Desalination**, v. 286, p. 277–284, 1 fev. 2012.

GAMSE, T. **Liquid-liquid extraction and solid-liquid extraction gamse 2002**. [s.l.] graz

university of technology, 2002.

GHAHREMAN, A. **Plant systematics: cormophytes of Iran**. 1. ed. Tehran: Iran University Press, 1993.

GHANI, M. A. et al. Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. **Food Chemistry**, v. 230, p. 195–207, 1 set. 2017.

GIL, B. et al. Accelerated communication: Effects of flavonoids on Naja Naja and human recombinant synovial phospholipases A2 and inflammatory responses in mice. **Life Sciences**, v. 54, n. 20, p. PL333–PL338, jan. 1994.

GNOATTO, S. C. B. et al. Evaluation of ursolic acid isolated from *Ilex paraguariensis* and derivatives on aromatase inhibition. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 9, p. 1865–1877, 7 set. 2008.

GRASEL, F. DOS S.; FERRÃO, M. F.; WOLF, C. R. Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 153, p. 94–101, 15 jan. 2016.

GUNATHILAKE, K. D. P. P.; RANAWEERA, K. K. D. S.; RUPASINGHE, H. P. V. Change of phenolics, carotenoids, and antioxidant capacity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of selected edible green leaves. **Food Chemistry**, v. 245, p. 371–379, 15 abr. 2018.

GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E. et al. Flavonoids and Phenolic Acids from Oregano: Occurrence, Biological Activity and Health Benefits. **Plants**, v. 7, n. 1, p. 2, 26 dez. 2017.

HAYBAR, H. et al. The effects of *Melissa officinalis* supplementation on depression, anxiety, stress, and sleep disorder in patients with chronic stable angina. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 26, p. 47–52, ago. 2018.

HENRIQUE, V. A.; FERREIRA, L. P.; NUNES, C. DOS R. Análise físico-química e antioxidante de manjeriço (*ocimum basilicum* l.) Orgânico. **Revista Interdisciplinar Pensamento Científico**, v. 3, n. 2, 22 dez. 2017.

HERRERA, T. et al. Teas and herbal infusions as sources of melatonin and other bioactive non-

nutrient components. **LWT**, v. 89, p. 65–73, 1 mar. 2018.

HOLLMAN, P. C.; KATAN, M. B. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. **Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 37, n. 9–10, p. 937–42, 1992.

HORI, R.; SUGIYAMA, J. A combined FT-IR microscopy and principal component analysis on softwood cell walls. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, n. 4, p. 449–453, 1 jun. 2003.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 23 mar. 2005.

HUSSAIN, A. I. et al. Antibacterial activity of some Lamiaceae essential oils using resazurin as an indicator of cell growth. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 1199–1206, 1 maio 2011.

IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 5. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

IBRAGIĆ, S. **Quantification of some phenolic acids in the leaves of *Melissa officinalis* L. from Turkey and Bosnia**, 2014. Disponível em: <<https://www.semanticscholar.org/paper/Quantification-of-some-phenolic-acids-in-the-leaves-Ibragić/07480bf0ed8978072403de06aa00fbe42cb6d7be>>. Acesso em: 15 mar. 2020

İLISULU, K. **İlaç ve Baharat Bitkileri**. Ank. Üniv. Ziraat Fak. Yayın. [s.l: s.n.].

IMESON, A. (ED.). **Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents**. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2009.

ISENGARD, H.-D.; PRÄGER, H. Water determination in products with high sugar content by infrared drying. **Food Chemistry**, v. 82, n. 1, p. 161–167, 1 jul. 2003.

JADHAV, S. J. et al. Lipid Oxidation in Biological and Food Systems. p. 19–78, 24 out. 1995.

JIMÉNEZ-ZAMORA, A.; DELGADO-ANDRADE, C.; RUFIÁN-HENARES, J. A. Antioxidant capacity, total phenols and color profile during the storage of selected plants used for infusion. **Food Chemistry**, v. 199, p. 339–346, 15 maio 2016.

JOANA GIL-CHÁVEZ, G. et al. Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview. **Comprehensive**

Reviews in Food Science and Food Safety, v. 12, n. 1, p. 5–23, 1 jan. 2013.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 1. ed. São Paulo: Ed. Nacional, 1975.

JORGE, N. **Embalagens para alimentos**. 1. ed. São Paulo: Cultura Acadêmica: Universidade Estadual Paulista, 2013.

JOYE, I. J.; MCCLEMENTS, D. J. Emulsifying and Emulsion-Stabilizing Properties of Gluten Hydrolysates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 12, p. 2623–2630, 26 mar. 2014.

KAPUR, A. *et al.* Modulation of oxidative stress and subsequent induction of apoptosis and endoplasmic reticulum stress allows citral to decrease cancer cell proliferation. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1–14, 8 jun. 2016.

KHALID, K. A.; HU, W.; CAI, W. The effects of harvesting and different drying methods on the essential oil composition of lemon balm (*melissa officinalis* L.). **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 11, n. 4, p. 342–349, 2008.

KIM, J. *et al.* The lemon balm extract ALS-L1023 inhibits obesity and nonalcoholic fatty liver disease in female ovariectomized mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 106, n. Pt A, p. 292–305, ago. 2017.

KRAUJALYTĖ, V., PELVAN, E., & ALASALVAR, C. Volatile compounds and sensory characteristics of various instant teas produced from black tea. **Food Chemistry**, 194, 864–872. 2016.

KOLEVA, I. I. *et al.* Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochemical analysis : PCA**, v. 13, n. 1, p. 8–17, jan. 2002.

KUANG, S. S.; OLIVEIRA, J. C.; CREAN, A. M. Microencapsulation as a Tool for Incorporating Bioactive Ingredients into Food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 10, p. 951–968, 22 nov. 2010.

KULCZYŃSKI, B. *et al.* The role of carotenoids in the prevention and treatment of cardiovascular disease – Current state of knowledge. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 45–65, 1 nov. 2017.

KUMAR, N.; PRUTHI, V. Potential applications of ferulic acid from natural sources.

Biotechnology reports (Amsterdam, Netherlands), v. 4, p. 86–93, dez. 2014.

KUMAR, S. et al. Infrared spectroscopy combined with imaging: A new developing analytical tool in health and plant science. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 51, n. 6, p. 466–483, 2 jul. 2016.

KUROZAWA, E. L.; HUBINGER, D. M. Htdrophilic food compounds encapsulation by ionic gelation. **Current Opinion in Food Science**, 2017.

KWON, K. H. et al. Cancer chemoprevention by phytochemicals: potential molecular targets, biomarkers and animal models. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 28, n. 9, p. 1409–1421, set. 2007.

KWON, Y.-I. I.; VATTEM, D. A.; SHETTY, K. Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 15, n. 1, p. 107–18, 2006.

LAMARÃO, R. DA C.; FIALHO, E. Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e sua relação com a redução da gordura corporal. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 2, p. 257–269, abr. 2009.

LAU, H.-C. et al. Investigation of Exhaled Breath Samples from Patients with Alzheimer's Disease Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry and an Exhaled Breath Sensor System. **Sensors**, v. 17, n. 8, p. 1783, 3 ago. 2017.

LAUNERT, E. **The Hamlyn guide to edible and medicinal plants of Britain and Northern Europe**. [s.l.] Hamlyn, 1981.

LEAL, P. F. et al. Functional Properties of Spice Extracts Obtained via Supercritical Fluid Extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 9, p. 2520–2525, 23 abr. 2003.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 1, p. 106–126, jan. 2012.

LEMOS, Ana Paula Dajtenko. **Perfil de compostos voláteis do headspace de pimenta biquinho vermelha (Capsicum chinese Jacq.)**. 2014. 38f. Trabalho de Conclusão de Curso

(Graduação em Farmácia) – Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

LEONG, M.-H.; TAN, C.-P.; NYAM, K.-L. Effects of Accelerated Storage on the Quality of Kenaf Seed Oil in Chitosan-Coated High Methoxyl Pectin-Alginate Microcapsules. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 10, p. C2367–C2372, 1 out. 2016.

LICHTENTHALER, H. K. [34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350–382, 1 jan. 1987.

LIMA, R. DE A. B. **Análise da secagem convectiva de folhas de manjerição (*Ocimum basilicum* L.)**. [s.l.] Universidade Federal de São Carlos, 19 mar. 2013.

LIN, J.-T. et al. Antioxidant, anti-proliferative and cyclooxygenase-2 inhibitory activities of ethanolic extracts from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. **LWT**, v. 49, n. 1, p. 1–7, 1 nov. 2012.

LÓPEZ CÓRDOBA, A.; DELADINO, L.; MARTINO, M. Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 315–323, 5 jun. 2013.

LÓPEZ, V. et al. Neuroprotective and Neurological Properties of *Melissa officinalis*. **Neurochemical Research**, v. 34, n. 11, p. 1955–1961, 7 nov. 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. (FRANCISCO J. DE A. **Plantas medicinais no Brasil : nativas e exóticas**. [s.l.] Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

LUCENA, D. S. et al. Plantas medicinais utilizadas na comunidade urbana de lagoa, sertão paraibano. **Biofar: revista de biologia e farmácia**, v. 9, n. 12, p. 135–145, 2013.

LUÑO, V. et al. Antioxidant effect of lemon balm (*Melissa officinalis*) and mate tea (*Ilex paraguensis*) on quality, lipid peroxidation and DNA oxidation of cryopreserved boar epididymal spermatozoa. **Andrologia**, v. 47, n. 9, p. 1004–1011, nov. 2015.

MACIEL, P. F. Determinação de umidade em amostras de chás de *Cymbopogon citratus* S., *Matricaria recutita* L., *Mentha* spp. e *Pimpinella anisum* L. através de métodos gravimétricos e termogravimétrico. 2017.

MADIGAN, M. T. et al. **Brock biology of microorganisms**. 13. ed. São Paulo: Prentice Hall,

2008.

MAGALHÃES, D. B. et al. *Melissa officinalis* L. ethanolic extract inhibits the growth of a lung cancer cell line by interfering with the cell cycle and inducing apoptosis. **Food & Function**, v. 9, n. 6, p. 3134–3142, 20 jun. 2018.

MARCONDES, N. S. P.; ESMERINO, L. A. QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PLANTAS MEDICINAIS CULTIVADAS EM HORTAS DOMÉSTICAS - DOI: 10.5212/Publ.Biologicas.v.16i2.0007. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 16, n. 2, p. 133–138, 2010.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal : fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. [s.l.] Editora UFV, 2009.

MARTINS, C. C. et al. Effect of plant extracts and a disinfectant on biological parameters and pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Cordycipitaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 2, p. 420–427, 3 maio 2016.

MARTINS, E. N. et al. Protective effect of *Melissa officinalis* aqueous extract against Mn-induced oxidative stress in chronically exposed mice. **Brain Research Bulletin**, v. 87, n. 1, p. 74–79, 4 jan. 2012.

MAU, J.-L. et al. Antioxidant properties of hot water extracts from *Ganoderma tsugae* Murrill. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, n. 6, p. 589–597, 1 set. 2005a.

MAU, J. et al. Antioxidant properties of methanolic extracts from. **Food Chemistry**, v. 93, n. 4, p. 641–649, 1 dez. 2005b.

MAUER, L. J.; BRADLEY, R. L. Moisture and Total Solids Analysis. In: [s.l.] Springer, Cham, 2000. p. 257–286.

MAY, B. H. et al. Herbal medicine for dementia: a systematic review. **Phytotherapy Research**, v. 23, n. 4, p. 447–459, abr. 2009.

MCCANN, M. C. et al. Fourier Transform Infrared Microspectroscopy Is a New Way to Look at Plant Cell Walls. **Plant Physiology**, v. 100, n. 4, p. 1940–1947, 1 dez. 1992.

MCCANN, M. C. et al. Infrared microspectroscopy: Sampling heterogeneity in plant cell wall composition and architecture. **Physiologia Plantarum**, v. 100, n. 3, p. 729–738, 1 jul. 1997.

MCCLEMENTS, D. J. Theoretical Analysis of Factors Affecting the Formation and Stability of Multilayered Colloidal Dispersions. 2005.

MCCLEMENTS, D. J.; XIAO, H. Excipient foods: designing food matrices that improve the oral bioavailability of pharmaceuticals and nutraceuticals. **Food & function**, v. 5, n. 7, p. 1320–33, 25 jul. 2014.

MELO, A. et al. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: mechanisms and therapeutic perspectives. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2011, p. 467180, 2011.

MELO, E. C.; RADÜNZ, L. L.; MELO, R. C. DE A. E. Influência do processo de secagem na qualidade de plantas medicinais. **Engenharia na agricultura**, v. 12, n. 1, p. 307–315, 2004.

MENG, D. et al. Detection of cellular redox reactions and antioxidant activity assays. **Journal of Functional Foods**, v. 37, p. 467–479, 1 out. 2017.

MERKEN, H. M.; BEECHER, G. R. Measurement of Food Flavonoids by High-Performance Liquid Chromatography: A Review. 2000.

MILEVSKAYA, V. V. et al. Determination of phenolic compounds in medicinal plants from the Lamiaceae family. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 72, n. 3, p. 342–348, 10 mar. 2017.

MOHAN KUMAR, K. et al. Biobased green method to synthesise palladium and iron nanoparticles using Terminalia chebula aqueous extract. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 102, p. 128–133, 1 fev. 2013.

MOKHTARZADEH, S.; DEMIRCI, B.; GÖGER, G.; KHAWAR, K. M.; KIRIMER, N. Characterization of volatile components in *Melissa officinalis* L. under in vitro conditions. **Journal of Essential Oil Research**, v. 29, n. 4, p. 299–303, 4 jul. 2017.

MONGENSEN, A. O. Choice of solvent in extraction, in: aichemi modular instructions: series b, stagewise and mass transfer operations. . **New york: american Institute of chemical engineers**, v. 46, n. 3, p. 195–215, 3 jul. 1982.

MOORE, J.; YOUSEF, M.; TSIANI, E. Anticancer Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract and Rosemary Extract Polyphenols. **Nutrients**, v. 8, n. 11, p. 731, 17 nov. 2016.

MORADI, M.-T. et al. In Vitro Anti-adenovirus Activity, Antioxidant Potential and total

Phenolic Compounds of *Melissa officinalis* L. (Lemon Balm) Extract. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 8, n. 9, p. 1471–1477, 2016.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050–4063, 2009.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 145–171, 1 fev. 2001.

MURALI, S. et al. Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. **Food Science and Technology International**, v. 21, n. 8, p. 604–612, 3 dez. 2015.

NAJAFI-SOULARI, S.; SHEKARCHIZADEH, H.; KADIVAR, M. Encapsulation optimization of lemon balm antioxidants in calcium alginate hydrogels. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 27, n. 16, p. 1631–1644, nov. 2016.

NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 29, n. 4, p. 273–300, jan. 1990.

NASCIMENTO, K. S. DO. **Compostos fenólicos, capacidade antioxidante e propriedades físico-químicas de méis de *Apis mellifera* do estado do Rio Grande do Sul**. São Paulo: Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, 15 dez. 2016.

NEDA MIMICA-DUKIC, *,† et al. Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) Essential Oil. 2004.

NEDOVIC, V. et al. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1806–1815, 2011.

NERES, A. C. et al. **Enteroparasitos em amostras de alface (*Lactuca sativa* var. *crispa*) , no município de Anápolis, Goiás, Brasil = Intestinal parasites in samples of lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispa*) from the municipality of Anápolis, state of Goiás, Brazil**, 2011. Disponível em: <[https://www.semanticscholar.org/paper/Enteroparasitos-em-amostras-de-alface-\(Lactuca-var.-Neres-Nascimento/e4129a7661f07ba101e7bca9097d7fc48f29d50c](https://www.semanticscholar.org/paper/Enteroparasitos-em-amostras-de-alface-(Lactuca-var.-Neres-Nascimento/e4129a7661f07ba101e7bca9097d7fc48f29d50c)>.

Acesso em: 15 mar. 2020

NICOLAI, M. et al. Antioxidant activity and rosmarinic acid content of ultrasound-assisted

ethanolic extracts of medicinal plants. **Measurement**, v. 89, p. 328–332, 1 jul. 2016.

NIKSIC, H.; DURIC, K.; SIJAMIC, I.; KORIC, E.; KUSTURICA, J.; OMERAGIC, E.; MURATOVIC, S. In vitro Antiproliferative activity of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) leaves essential oil. **Bol. latinoam. Caribe plantas med. aromát**, p. 480–491, 2019.

NORDIN, N.; YEAP, S. K.; RAHMAN, H. S.; ZAMBERI, N. R.; ABU, N.; MOHAMAD, N. E.; HOW, C. W.; MASARUDIN, M. J.; ABDULLAH, R.; ALITHEEN, N. B. In vitro cytotoxicity and anticancer effects of citral nanostructured lipid carrier on MDA MBA-231 human breast cancer cells. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–19, 1 dez. 2019.

OBMANN, A. Book review: Pharmakognosie – Phytopharmazie. **Scientia Pharmaceutica**, v. 78, n. 2, p. 381–381, 2010.

OLIVEIRA, M. .; PAGANI, A. C. **Estudo do processo de obtenção de gotas de mamão (carica papaya l.) por esferificação**. [s.l.] Universidade Federal de Sergipe, 2011.

ORTEGA-RAMIREZ, L. A. et al. Potential of Medicinal Plants as Antimicrobial and Antioxidant Agents in Food Industry: A Hypothesis. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 2, p. R129–R137, fev. 2014.

OYAIZU, M. Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. **The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics**, v. 44, n. 6, p. 307–315, 1 jan. 1986.

ÖZCAN, M.; ARSLAN, D.; ÜNVER, A. Effect of drying methods on the mineral content of basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of Food Engineering**, v. 69, n. 3, p. 375–379, 1 ago. 2005.

PALMA-TENANGO, M.; SOTO-HERNÁNDEZ, M.; AGUIRRE-HERNÁNDEZ, E. Flavonoids in Agriculture. In: **Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health**. [s.l.] InTech, 2017.

PARK, B. Y. et al. Reduction of Adipose Tissue Mass by the Angiogenesis Inhibitor ALS-L1023 from *Melissa officinalis*. **PLOS ONE**, v. 10, n. 11, p. e0141612, 23 nov. 2015.

PASIN, B. L.; AZÓN, C. G.; GARRIGA, A. M. Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. **Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, v. 3,

n. 1, p. 130–151, 2012.

PASSOS, R. M. **Incorporação da polpa de tomate encapsulada por gelificação iônica ao azeite de oliva extravirgem e avaliação da estabilidade do produto.** [s.l.] Universidade Federal de Sergipe, 2017.

PENHA, Maria Flávia Azevedo da. Influência da maceração enzimática e da pausterização no perfil de compostos voláteis livres e glicolizados na polpa de bacuri (*Platonia Insignis* Mart.). 2014. 69f. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

PEREIRA, E. et al. How gamma and electron-beam irradiations modulate phenolic profile expression in *Melissa officinalis* L. and *Melittis melissophyllum* L. **Food Chemistry**, v. 240, p. 253–258, 1 fev. 2018.

PEREIRA, R. P. et al. Chemical composition, antioxidant and anticholinesterase activity of *Melissa officinalis*. **Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 34–45, 1 fev. 2014.

PETENATTI, M. E. et al. Quantitative micrograph, HPLC and FTIR profiles of *Melissa officinalis* and *Nepeta cataria* (Lamiaceae) from Argentina. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, v. 46, n. 2, p. 15–27, 2014.

PIMENTA, A. C. et al. Caracterização de plantas e de frutos de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart.) nativos no Cerrado Matogrossense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 4, p. 892–899, dez. 2014.

POPOVA, A. et al. *Melissa officinalis* L.- GC Profile and Antioxidant Activity. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 8, n. 4, p. 634–638, 2016.

PORRINI, M.; RISO, P. Factors influencing the bioavailability of antioxidants in foods: A critical appraisal. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 18, n. 10, p. 647–650, dez. 2008.

PRADO, D. F. **DESENVOLVIMENTO DE PLACAS DE EMBALAGENS ‘LONGA VIDA’ E ESTUDO DE SEU COMPORTAMENTO COMO MATERIAL TÉRMICO.** [s.l.] Universidade Federal do Pampa, 2015.

PREEDY, V. R. **Cancer : oxidative stress and dietary antioxidants**. [s.l.] Academic Press, 2014.

PROESTOS, C. et al. RP-HPLC Analysis of the Phenolic Compounds of Plant Extracts. Investigation of Their Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 4, p. 1190–1195, 23 fev. 2005.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols As Determined by a Modified Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3396–3402, ago. 2000.

QUEIROZ, R. M. DE; TAKIYA, C. M.; GUIMARÃES, L. P. T. P.; ROCHA, G. D. G.; ALVIANO, D. S.; BLANK, A. F.; ALVIANO, C. S.; GATTASS, C. R. Apoptosis-inducing effects of melissa officinalis L. essential oil in glioblastoma multiforme cells. **Cancer Investigation**, v. 32, n. 6, p. 226–235, 2014.

QUESILLE-VILLALOBOS, A. M.; TORRICO, J. S.; RANILLA, L. G. Phenolic compounds, antioxidant capacity, and in vitro α -amylase inhibitory potential of tea infusions (*Camellia sinensis*) commercialized in Chile. **CyTA: journal of food**, v. 11, n. 1, p. 60–67, 2009.

RACOVITĂ, Ș. et al. Polysaccharides based on micro- and nanoparticles obtained by ionic gelation and their applications as drug delivery systems. **Revue Roumaine de Chimie**, v. 54, n. 9, p. 709–718, 2009.

RAINS, J. L.; JAIN, S. K. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 50, n. 5, p. 567–575, 1 mar. 2011.

RAMARATHNAM, N. et al. The contribution of plant food antioxidants to human health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, n. 3, p. 75–82, 1 mar. 1995.

RATHOD, G.; KAIRAM, N. Preparation of omega 3 rich oral supplement using dairy and non-dairy based ingredients. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 2, p. 760–766, 21 fev. 2018.

RBG, K. **The state of the world's plants report**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://stateoftheworldsplants.org/2017/report/SOTWP_2017_1_naming_and_counting_the_world_s_plant_families.pdf>. Acesso em: 5 mar. 2020.

RÉ, M.-I. Formulating Drug Delivery Systems by Spray Drying. **Drying Technology**, v. 24, n. 4, p. 433–446, maio 2006.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology & medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–7, maio 1999.

RÊGO, G. M.; POSSAMAI, E. **Avaliação de teores de clorofila no crescimento de mudas do jequitibá-rosa (Cariniana legalis)**. São Paulo: Colombo: Embrapa Florestas, 2002, 2004. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/308150>>. Acesso em: 15 mar. 2020.

RÊGO JÚNIOR, N. O. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante de extratos brutos de espécies vegetais da caatinga. **BRAZILIAN JOURNAL OF FOOD TECHNOLOGY**, v. 14, n. 01, p. 50–57, 17 mar. 2011.

REHMAN, Z.-; HABIB, F.; SHAH, W. H. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. **Food Chemistry**, v. 85, n. 2, p. 215–220, 1 abr. 2017.

REIFSHNEIDER, F. J. B.; NASS, L. L.; HENZ, G. P. **Uma pitada de biodiversidade na mesa dos brasileiros**. 1. ed. Brasília: [s.n.].

REIS, É. S. et al. Teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. in vitro sob influência do meio de cultura. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, n. 2, p. 331–335, 2009.

RHODEN, A. **Colorimetria – transformando teoria em resultados**. [s.l: s.n.].

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933–956, 1 jan. 1996.

ROLEIRA, F. M. F. et al. Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties. **Food Chemistry**, v. 183, p. 235–258, 15 set. 2015.

ROMEO, F. V. et al. Antimicrobial Effect of Some Essential Oils. **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, n. 4, p. 373–379, jul. 2008.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP)**. Fortaleza: [s.n.]. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000154&pid=S0101-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000154&pid=S0101-2061201400030002400034&lng=pt)

2061201400030002400034&lng=pt>. Acesso em: 13 mar. 2020.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS•+**. Fortaleza: [s.n.]. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000131&pid=S0103-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000131&pid=S0103-5053201200040000600225&lng=pt)

5053201200040000600225&lng=pt>. Acesso em: 13 mar. 2020.

SABERI, A. et al. The Effects of Methanolic Extract of *Melissa officinalis* on Experimental Gastric Ulcers in Rats. **Iranian Red Crescent medical journal**, v. 18, n. 7, p. e24271, jul. 2016.

SAIGG, N. L.; SILVA, M. C. Efeitos da utilização do chá verde na saúde humana. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 7, n. 1, p. 69–89, 18 dez. 2009.

SANCHES, L. J.; MARINELLO, P. C.; PANIS, C.; FAGUNDES, T. R.; MORGADO-DÍAZ, J. A.; DE-FREITAS-JUNIOR, J. C. M.; CECCHINI, R.; CECCHINI, A. L.; LUIZ, R. C. Cytotoxicity of citral against melanoma cells: The involvement of oxidative stress generation and cell growth protein reduction. **Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine**, v. 39, n. 3, p. 1010428317695914, 29 mar. 2017.

SANTOS, A. S. F.; AGNELLI, J. A. M.; MANRICH, S. Tendências e desafios da reciclagem de embalagens plásticas. **Polímeros**, v. 14, n. 5, p. 307–312, dez. 2004.

SANTOS, E. L. et al. Flavonoids: Classification, Biosynthesis and Chemical Ecology. In: **Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health**. [s.l.] InTech, 2017.

SANTOS, Ariadne Matos Dos; BARBOSA, Marinuzia Silva; SANTOS, Taynara Goes Dos; PAGANI, Alessandra Almeida Castro. Caracterização de Compostos com Ação Bioativa de Microcápsulas de Pimenta-de-Cheiro Verde (*Capsicum chinense* Jacquin) Armazenada em Meio Ácido. **Revista INGI - Indicação Geográfica e Inovação**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 674–680, 2020. Disponível em: <http://ingi.api.org.br/index.php/INGI/article/view/81>. Acesso em: 21 mar. 2020.

SANTOS, R. S. B. **Estudo dos fatores que influenciam os atributos de esferas de alginato**. [s.l.] Universidade de Aveiro, 2012.

SCHOLEY, A. et al. Anti-Stress Effects of Lemon Balm-Containing Foods. **Nutrients**, v. 6, n. 11, p. 4805–4821, 30 out. 2014.

SCHOUBBEN, A. et al. Development of a scalable procedure for fine calcium alginate particle preparation. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, n. 1, p. 363–369, 15 maio 2010.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820–897, 1 out. 2015.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67–103, jan. 1992.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. 1. ed. [s.l.] Lancaster, Pa. : Technomic Pub. Co., 1995.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757–781, 1 out. 2015.

SHAKERI, A.; SAHEBKAR, A.; JAVADI, B. Melissa officinalis L. – A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 188, p. 204–228, 21 jul. 2016.

SHEIKH, B. Y.; SARKER, M. M. R.; KAMARUDIN, M. N. A.; MOHAN, G. Antiproliferative and apoptosis inducing effects of citral via p53 and ROS-induced mitochondrial-mediated apoptosis in human colorectal HCT116 and HT29 cell lines. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 96, p. 834–846, 1 dez. 2017.

SILVA, G. A. DA et al. Estudo toxicológico e farmacológico dos extratos fluídos de Cissus sicyoides L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, n. 2, p. 143–155, 1996.

SILVA, P. T. DA et al. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some

applications in food technology. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1304–1311, jul. 2014.

SILVA, S. DA et al. Essential oil composition of *Melissa officinalis* L. in vitro produced under the influence of growth regulators. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6b, p. 1387–1390, nov. 2005.

SILVA, T. C.; PINTO, J. E. B. P.; PACHECO, F. V.; ROZA, H. L. H.; LORDÊLLO, D. M. DA S.; BERTOLUCCI, S. K. V. The growth, photosynthetic pigments and essential oil composition of monocropped and intercropped lemon balm with yarrow. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 40, n. 1, p. 35506, 1 ago. 2018.

SIMEONI, C. P. et al. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. **Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas - UFSM, Santa Maria**, v. 18, p. 66–75, 2014.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: Do Produto Natural ao Medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

SIMPSON, N. E. et al. NMR properties of alginate microbeads. **Biomaterials**, v. 24, n. 27, p. 4941–4948, 1 dez. 2003.

SILVA, Júlio César Cardoso. **Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de microcistina-LR e agrotóxicos em águas superficiais, utilizando as técnicas de cromatografia líquida e cromatografia gasosa acopladas a espectrometria de massas**. 2010. 176f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2010

SKENDI, A.; IRAKLI, M.; CHATZOPOULOU, P. Analysis of phenolic compounds in Greek plants of Lamiaceae family by HPLC. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 6, p. 62–69, 1 set. 2017.

SKOOG, D. A. et al. **Princípios de análise instrumental**. [s.l.] Bookman, 2002.

SKOTTI, E. et al. Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants. **Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 46–54, 1 fev. 2014.

SMIDSRØD, O.; SKJÅK-BRÅK, G. Alginate as immobilization matrix for cells. **Trends in Biotechnology**, v. 8, p. 71–78, 1 jan. 1990.

SMRDEL, P. et al. Shape optimization and characterization of polysaccharide beads prepared by ionotropic gelation. **Journal of Microencapsulation**, v. 25, n. 2, p. 90–105, 8 jan. 2008.

SODRÉ, A. C. B.; LUZ, J. M. Q.; HABER, L. L.; MARQUES, M. O. M.; RODRIGUES, C. R.; BLANK, A. F. Organic and mineral fertilization and chemical composition of lemon balm (*Melissa officinalis*) essential oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n. 1, p. 40–44, jan. 2011.

SODRÉ, A. C. B. **Biomassa, rendimento e composição de óleo essencial de Melissa officinalis em função de adubação orgânica e mineral**. [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2007.

SOETHE, C. et al. Qualidade, compostos fenólicos e atividade antioxidante de amoras-pretas “Tupy” e “Guarani” armazenadas a diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 8, p. 950–957, ago. 2016.

SOSA, V. et al. Oxidative stress and cancer: An overview. **Ageing Research Reviews**, v. 12, n. 1, p. 376–390, jan. 2013.

SOTO, L. T. M.; CORDOBA, C. A. L.; MARÍN, P. A.; GUTIERREZ, S. A. T.; OCHOA, J. A. Z. Characterization of aroma compounds in sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) by HS-SPME-GC-MS-O. **Revista Colombiana de Química**, v. 48, n. 3, p. 45–50, 1 set. 2019.

SOUSA, G. M. DE. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis ativos e aplicação na conservação de massa alimentícia fresca**. [s.l.] Universidade Federal de Goiás, 2012.

SPIRIDON, I. et al. Antioxidant capacity and total phenolic contents of oregano (*Origanum vulgare*), lavender (*Lavandula angustifolia*) and lemon balm (*Melissa officinalis*) from Romania. **Natural Product Research**, v. 25, n. 17, p. 1657–1661, out. 2011.

STOJANOVIĆ, N. M.; RANDJELOVIĆ, P. J.; MLADENOVIĆ, M. Z.; ILIĆ, I. R.; PETROVIĆ, V.; STOJILJKOVIĆ, N.; ILIĆ, S.; RADULOVIĆ, N. S. Toxic essential oils, part VI: Acute oral toxicity of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) essential oil in BALB/c mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 133, p. 110794, 1 nov. 2019.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 63–68, 1 jan. 1959.

SYTAR, O. et al. Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 4, p. 631–641, 1 maio 2018.

TAHERPOUR, A.; MAROOFI, H.; RAFIE, Z.; LARIJANI, K. Chemical composition analysis of the essential oil of *Melissa officinalis* L. from Kurdistan, Iran by HS/SPME method and calculation of the biophysicochemical coefficients of the components. **Natural Product Research**, v. 26, n. 2, p. 152–160, 1 jan. 2012.

TAPAS, A.; SAKARKAR, D.; KAKDE, R. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 3, p. 1089–1099, 2008.

TEIXEIRA, L. V. Análise Sensorial na Indústria de Alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 366, p. 12–21, 2009.

TELLO, F. et al. Alginate and pectin-based particles coated with globular proteins: Production, characterization and anti-oxidative properties. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 670–678, 1 jan. 2015.

TESTAI, L. Flavonoids and mitochondrial pharmacology: A new paradigm for cardioprotection. **Life Sciences**, v. 135, p. 68–76, 15 ago. 2015.

TRIFKOVIĆ, K.; TADIĆ, G.; BUGARSKI, B. **Journal of engineering et processing management : EPM**. [s.l: s.n.]. v. 8

TRIVELLINI, A. et al. Lamiaceae phenols as multifaceted compounds: bioactivity, industrial prospects and role of “positive-stress”. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 241–254, 1 maio 2016.

TSAKONA, S.; GALANAKIS, C. M.; GEKAS, V. Hydro-Ethanollic Mixtures for the Recovery of Phenols from Mediterranean Plant Materials. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 4, p. 1384–1393, 12 maio 2012.

TUBEROSO, C. I. G. et al. Color evaluation of seventeen European unifloral honey types by

means of spectrophotometrically determined CIE L*a*b* chromaticity coordinates. **Food Chemistry**, v. 145, p. 284–291, 15 fev. 2014.

TYAGI, V. V. et al. Development of phase change materials based microencapsulated technology for buildings: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 2, p. 1373–1391, 1 fev. 2011.

TZIMA, K.; BRUNTON, N.; RAI, D. Qualitative and Quantitative Analysis of Polyphenols in Lamiaceae Plants—A Review. **Plants**, v. 7, n. 2, p. 25, 26 mar. 2018.

ULUBELEN, A. Cardioactive and antibacterial terpenoids from some *Salvia* species. **Phytochemistry**, v. 64, n. 2, p. 395–399, 1 set. 2003.

UMAR LULE, S.; XIA, W. Food Phenolics, Pros and Cons: A Review. **Food Reviews International**, v. 21, n. 4, p. 367–388, out. 2005.

VALERIANO, F. R. et al. O uso de plantas medicinais e o interesse pelo cultivo comunitário por moradores do bairro São Francisco, município de Pitangui, MG. **Interações (Campo Grande)**, v. 20, n. 3, p. 891, 23 set. 2019.

VASCONCELOS, M. A. DA S. **Conservação de alimentos**. Recife: [s.n.]. Disponível em: <http://redeetec.mec.gov.br/images/stories/pdf/eixo_prod_alim/tec_alim/181012_con_alim.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2020.

VÁZQUEZ, G. et al. Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 28, n. 3, p. 279–285, 1 nov. 2008.

VIRGOLIN, L. B.; SEIXAS, F. R. F.; JANZANTTI, N. S. Composition, content of bioactive compounds, and antioxidant activity of fruit pulps from the Brazilian Amazon biome. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 10, p. 933–941, out. 2017.

WANG, S.-H. et al. Características sensoriais de leites de soja reconstituídos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 467–472, mar. 1999.

WANG, T.; HE, F.; CHEN, G. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. **Journal of Functional Foods**, v. 7, p. 101–111, 1 mar. 2014.

WANG, T.; LI, Q.; BI, K. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 12–23, 1 jan. 2018.

WEIDNER, C. et al. Lemon balm extract causes potent antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects in insulin-resistant obese mice. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 58, n. 4, p. 903–907, abr. 2014.

WICHCHUKIT, S. et al. Whey protein/alginate beads as carriers of a bioactive component. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 66–73, 1 ago. 2013.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99–105, 24 jan. 1998.

WONG, W. H. et al. Two level half factorial design for the extraction of phenolics, flavonoids and antioxidants recovery from palm kernel by-product. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 238–248, jan. 2015.

XIA, H.; LIANG, W.; SONG, Q.; CHEN, XIAOWEN; CHEN, XIN; HONG, J. The in vitro study of apoptosis in NB4 cell induced by citral. **Cytotechnology**, v. 65, n. 1, p. 49–57, 10 jan. 2013.

ZAGO, L. M. S.; DE MOURA, M. E. P. Vinte e dois anos de pesquisa sobre plantas medicinais: uma análise cienciométrica. **Tecnia**, v. 3, n. 1, p. 173, 2018.

ZAPPI, D. C. et al. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085–1113, 2015.

ZERAATPISHE, A. et al. Effects of *Melissa officinalis* L. on oxidative status and DNA damage in subjects exposed to long-term low-dose ionizing radiation. **Toxicology and Industrial Health**, v. 27, n. 3, p. 205–212, 21 abr. 2011.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5165–5170, nov. 2001.

ZHOU, Q.; LIU, S.; LIU, Y.; SONG, H. Comparative analysis of volatiles of 15 brands of extra-virgin olive oils using solid-phase micro-extraction and solvent-assisted flavor evaporation.

Molecules, v. 24, n. 8, 17 abr. 2019.

ZIELNIK, A. Durability: Keeping up appearances. **Architectural Coatings**, p. 62–67, 2006.

ZOU, Z. et al. Antioxidant activity of Citrus fruits. **Food Chemistry**, v. 196, p. 885–896, 1 abr. 2016.